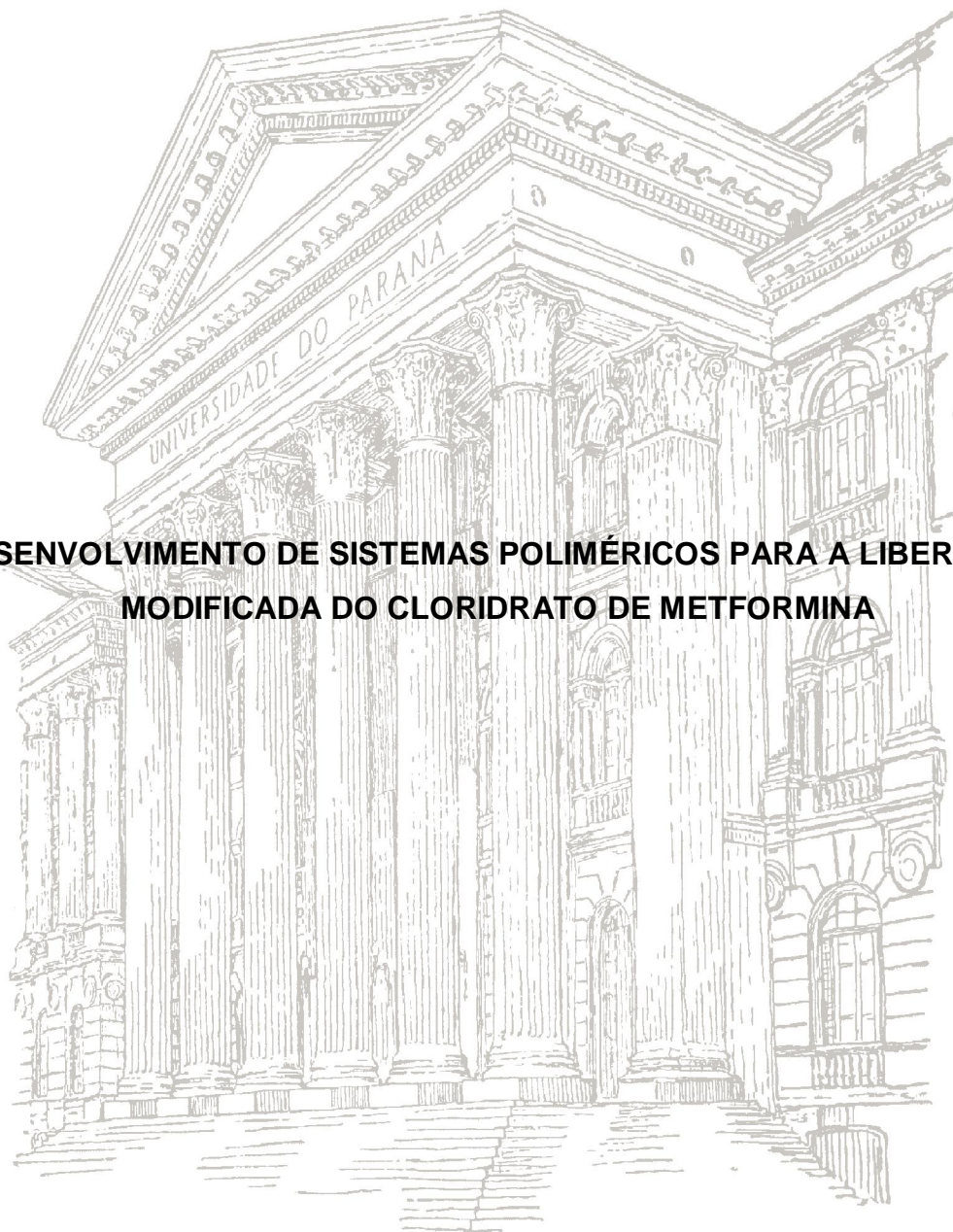


PAULO VITOR FARAGO

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS PARA A LIBERAÇÃO
MODIFICADA DO CLORIDRATO DE METFORMINA**



CURITIBA

2007

PAULO VITOR FARAGO

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS PARA A LIBERAÇÃO
MODIFICADA DO CLORIDRATO DE METFORMINA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, do Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sônia Faria Zawadzki

CURITIBA

2007

DEDICATÓRIA

A Deus, que olhou por mim, tantas vezes, durante o doutorado. Obrigado meu Deus, por estar sempre ao meu lado, sobretudo nos dias que seria mais fácil ter desistido. Obrigado por sua proteção divina, principalmente durante as viagens semanais entre Ponta Grossa e Curitiba, cruzando as rodovias BR 376 e BR 277, mesmo nos dias de granizo, de cerração e de chuva, de engarrafamentos, de escoamento de safras e de protestos nas praças de pedágio. Obrigado por colocar as pessoas certas no meu caminho, dispostas a me auxiliar de forma incondicional e desprendida.

Aos meus pais, Elisa Silveira Farago e Miguel Odair Farago, que desde o princípio da minha vida, por meio de ensinamentos, amizade e proximidade, constituem o alicerce onde posso me apoiar para evoluir. Obrigado, mamãe, por ser minha grande professora, que usando de toda a sua formação pedagógica, sempre procurou aguçar meu espírito crítico e contribuir para a minha formação humana. Obrigado, papai, por me ensinar, com rigor, o valor da palavra empenhada. Talvez, ofertar-lhes cada pequena conquista da minha vida, seja uma forma singela e simbólica de retribuir o impagável carinho e o profundo amor que sempre recebi de vocês.

Ao meu irmão, Luciano Silveira Farago, que sempre exercendo a flexibilidade e a tolerância, proporcionou parte da logística necessária para que eu pudesse concluir o doutorado. Mano, obrigado por sempre me ajudar. Você sabe que suas pequenas ações, como me levar ao aeroporto, fazer as compras no supermercado, arrumar o carro, de minha parte, nunca serão esquecidas. Também, revelo minha gratidão pelo respeito que sempre teve por mim. Obrigado pelos momentos de convivência e de partilha nas dificuldades financeiras.

A minha madrinha, Odette Taques Silveira, que sempre com entusiasmo, rezou a Deus pedindo bênçãos ao seu afilhado querido. Tia Odette, obrigado pelo seu grande amor por mim. Peço desculpas por não estar mais perto durante esses

anos de doutorado. Obrigado por compreender que as atividades que me tiram da cama bem cedo e me devolvem, quase sempre, bem tarde a ela, são etapas necessárias na minha evolução profissional.

À Profª. Drª. Inês Janete Mattoso Takeda, eterna mestre desde os tempos de iniciação científica. Profª. Inês, obrigado por todos os ensinamentos acadêmicos. Obrigado, também, pelas incontáveis lições de filosofia e pelos inúmeros exemplos de vida. Acredito que nada nesse mundo é por acaso e sempre agradeço a Deus por ter conhecido a senhora. Creio que a senhora sabe da importância intangível de sua existência na minha vida, principalmente durante o doutorado, quando as conversas de final de semana me ajudaram a reduzir a solidão e o distanciamento de casa.

AGRADECIMENTOS

*Se eu vi mais longe, foi por estar
sobre os ombros de gigantes.*

Isaac Newton

À Prof^a. Dr^a. Sônia Faria Zawadzki, do Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná, minha orientadora e grande incentivadora. Prof^a. Sônia, você me ensinou que um arsenal de conhecimentos e de palavras não tem sentido e nem relevância se não houver uma finalidade prática e um ideal superior. Obrigado por manter meus pés no chão, sem impedir de minha cabeça alçar vôos mais elevados. Obrigado também, pela sua imensa paciência comigo. Você é uma das pessoas em quem mais me inspiro para continuar na caminhada acadêmica. Sua dedicação, seu bom humor, sua alegria singela e sua postura nas atividades de pesquisa e nas relações humanas são grandes exemplos para mim. Tenha certeza, que sem a sua contribuição científica, além da parceria (que sempre gosta de mencionar), nenhuma dessas páginas teria sido sequer escrita.

À Prof^a. Dr^a. Adriana Raffin Pohlmann, do Departamento de Química Orgânica, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e à Prof^a. Dr^a. Sílvia Stanisquaski Guterres, do Departamento de Produção e Controle de Medicamentos, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, duas grandes estrelas que me ajudaram a iluminar os caminhos desta tese. Obrigado pela confiança, pelos conhecimentos em microtecnologia aplicada a medicamentos e na racionalização de experimentos. A amizade e o acolhimento que vocês propiciaram em Porto Alegre jamais serão esquecidos.

A Prof^a. Dr^a. Letícia Norma Carpentieri Rodrigues, do Departamento de Farmácia, da Universidade Federal do Paraná, pelas inúmeras contribuições durante o decorrer do trabalho e pelas observações pertinentes durante a participação no

exame de qualificação. Prof^a. Letícia, obrigado pela boa vontade demonstrada e pelo desejo genuíno em ajudar.

Ao Prof. Dr. Patricio Peralta Zamora, do Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná, pelos ensinamentos ministrados durante a disciplina de Calibração Multivariada em Química Analítica. Obrigado ainda, pelo tratamento sempre respeitoso e humano, pelos momentos de alegria e confraternização e pelas sugestões valiosas traçadas no exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. Ronilson Vasconcelos Barbosa, do Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná, pela participação no exame de qualificação e pela capacidade extraordinária, durante esses anos de convivência, de oferecer mais questionamentos do que respostas, aumentando a minha curiosidade científica e me induzindo ao aprofundamento da pesquisa.

À Prof^a. Dr^a. Jaísa Fernandes Soares, do Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio nos momentos de dificuldade. Prof^a. Jaísa, obrigado por acreditar no meu potencial científico. Provavelmente, sem a sua interferência, em determinado momento, eu jamais conseguiria terminar o doutorado. Agradeço a Deus pela senhora existir, principalmente pelas lições sobre ética e respeito ao ser humano, sempre pautadas por profunda sensibilidade administrativa.

À Prof^a. Dr^a. Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia, do Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná, pelos vastos conhecimentos transmitidos na disciplina de Química de Produtos Naturais. Aproveito para agradecer as palavras de incentivo, o afeto e o sorriso amigo.

À Prof^a. Dr^a. Maria Rita Sierakowski, do Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná, por acompanhar o desenvolvimento do trabalho, através da leitura crítica dos relatórios. Prof^a. Maria Rita, obrigado por despender de parte do seu tempo para fazer todas as colocações científicas, indicadas pela senhora, ao longo desses anos. Tenha certeza, que foram de grande valia e sempre foram muito bem-vindas.

Aos professores do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, especialmente à Prof^a. Dr^a. Fabiana Postiglione Mansani Pereira e ao Prof. Dr. Sinvaldo Baglie, por terem sempre permitido a adequação dos horários das atividades didáticas, de forma a possibilitar, mesmo sem liberação, que eu pudesse concluir o curso de doutorado. Expresso a minha elevada gratidão a esses meus amigos, muitos dos quais foram meus professores, que sempre me incentivaram e compreenderam a minha necessidade de crescimento científico-profissional.

A Prof. M.Sc. Josiane de Fátima Padilha de Paula, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, minha amiga incondicional durante todo o doutorado. Josiane, você, mais do que ninguém, tem a noção do valor exato dessa vitória para mim, pois teve a oportunidade de acompanhar diversos momentos difíceis. Agradeço, sensibilizado, todo o carinho, todos os conselhos e toda a amizade. Espero que nossa parceria se mantenha por muitos anos, sempre pautada pelo respeito, pela sinceridade e pela valorização do outro.

Aos grandes amigos que fiz em Curitiba, durante os anos de doutorado. Juliana Kloss, Rodrigo Soares Ferreira, Scheyla Elsi Camargo Zeck, Soraia Zaioncz e Vilmar Weber, com a ajuda de vocês, os dias (e as noites) na capital paranaense foram mais agradáveis, prazerosos e festivos. Primeiro, sou muito grato pelo auxílio e pelo companheirismo no laboratório. Sheyla, nunca vou esquecer do seu esforço para me ensinar a montar os primeiros experimentos, lembra? Mas, mais agradecido fico, pelos incontáveis momentos de descontração, em bares, cinemas, restaurantes e teatros. Como deixar de recordar os jantares que preparamos? Como não reviver os momentos de felicidade, as histórias intermináveis contadas pelo Rodrigo e as piadas do Weber? Saibam que esses fatos ficarão gravados sempre em minha memória e que, desde já, sinto muita saudade.

Aos amigos mais do que especiais que conheci em Porto Alegre, Alessandra Badejo, Eliézer Jäger, Lali Ronsoni Zancan, Leticia Cruz, Letícia Marques Colomé, Renata Platcheck Raffin e Scheila Rezende Schaffazick. Obrigado pelas incontáveis colaborações, que fizeram meus dias de trabalho na capital gaúcha muito mais

produtivos e alegres. Lali, sou eternamente grato pelo aconselhamento, pelo exemplo de equilíbrio frente à vida e pelo acolhimento em seu apartamento. Renata, sou agradecido pela paciência que você teve ao me explicar toda a modelagem matemática dos perfis de liberação e também, por me levar para comer um verdadeiro churrasco pampiano.

Aos colegas do Laboratório de Polímeros Sintéticos, do Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná. Beatriz Cristina Marcante Sá, Carlos Alberto Perusse, Cláudio Batista Ciulik, Cleverson Gerônimo Sandri, Elisandra Bolsoni, Heveline Dal Magro Follmann, Janilson Souza Araújo, José Anzaldo Hernández, Kely Viviane de Souza, Patrícia Berenice Binhara, Reinaldo Yoshio Morita, Réverson de Grandis da Costa, Simone Adriane da Silva e Tiago Hommerding Pedrozo, agradeço a amizade e a colaboração ao longo desses anos.

Aos colegas do Laboratório 405, do Departamento de Produção e Controle de Medicamentos, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Alessandro Jäger, Cristiane de Bona da Silva, Denise Soledade Jornada, Fernanda Poletto, Gislane Scholze Domingues, Inara Staub Prochnau, Irene Clemes Kulkamp, Karina Paese, Leandro Tasso, Manuela de Castilhos França Gonçalves, Nataly Machado Siqueira e Rodrigo José Freddo, sou grato pela receptividade e pelo incentivo durante os períodos de permanência em Porto Alegre.

Aos meus colegas do Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal do Paraná. Adriane Martins de Freitas, Alessandra Machado Baron, Ana Márcia de Matos Volpato, César Arthur Martins Chornobai, Ciro Maurício Zimmermann, Danielle Caroline Schnitzler, Elaine Regina Lopes Tiburtius, Elenise Sauer Leal, Elisa Perez, Elizabeth Weinhardt de Oliveira Scheffer, Eryza Guimarães de Castro, Gilcélia Aparecida Cordeiro, Júlio César Stiirmer, Marcela Mohallem Oliveira, Maria Luiza Machado Fernandes, Mariane Cristina Schnitzler, Miryan Ramos de Gouvêa, Patrícia Zancanella, Safi Amaro Monteiro, Sandra Maria Warumby Zanin, Vanessa Egéa dos Anjos e Vitor Ângelo Fonseca Deichmann, obrigado pela troca de conhecimentos e experiências, que contribuíram para a ampliação dos meus horizontes pessoais, profissionais e científicos.

À amiga Valcineide Oliveira de Andrade Tanobe, doutoranda no Programa Interdisciplinar de Pós-graduação em Engenharia da Universidade Federal do Paraná, pelo apoio incondicional nas horas mais difíceis e pela disposição constante em me auxiliar.

À Daniela Florencio Maluf, mestranda no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná, pela colaboração nas análises por espectrofotometria na região do ultravioleta-visível.

Ao Programa de Pós-graduação em Química e ao Departamento de Química, da Universidade Federal do Paraná, por disponibilizar a infra-estrutura física e a maioria dos equipamentos necessários para a realização do presente trabalho de doutorado. Agradeço ainda, a Universidade Federal do Paraná pela oportunidade.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas e ao Departamento de Produção e Controle de Medicamentos, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela permissão do desenvolvimento de algumas das atividades experimentais do doutorado em Porto Alegre.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica, da Universidade Federal do Paraná, em especial, aos amigos Rosângela Borges Freitas, Sergio Tokunaga e Vera Regina Fontana Pionteke, pelo empenho e pela colaboração nas análises de microscopia eletrônica de varredura.

Ao Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento (LACTEC), na figura da pesquisadora Dr^a. Marilda Munaro, pela realização das análises térmicas.

Ao Laboratório Interdisciplinar de Materiais Cerâmicos (LIMAC), do Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Materiais, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, em especial, ao Prof. Dr. Alfredo José Zara e ao técnico Douglas Wellington Migliorini, pelo auxílio nos ensaios por espectrometria de difração a laser.

Ao Laboratório de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, do Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Estadual de Maringá,

especialmente à pesquisadora Dr^a. Ivânia Teresinha Albrecht Schuquel, pela execução dos estudos de ressonância magnética nuclear.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de doutorado, e à Fundação Araucária, pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa.

A todos os que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento do presente trabalho, meu muito obrigado.

Life is polymeric in its essence.
A vida é polimérica na sua essência.
Nilesh V. Patil

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	xv
LISTA DE TABELAS.....	xxii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	xxiv
RESUMO.....	xxvii
ABSTRACT.....	xxviii
1 INTRODUÇÃO.....	01
1.1 MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA DE FÁRMACOS.....	01
1.2 ASPECTOS BIOFARMACÊUTICOS DO CLORIDRATO DE METFORMINA.....	11
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1 EQUIPAMENTOS.....	18
3.2 REAGENTES E SOLVENTES.....	19
3.2.1 Fármaco.....	19
3.2.2 Polímeros.....	19
3.2.3 Água purificada.....	20
3.2.4 Outros reagentes e solventes.....	20
3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	21
3.3.1 Obtenção das micropartículas poliméricas.....	21
3.3.1.1 Sistema S1: micropartículas contendo cloridrato de metformina, formuladas pelo método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico, a partir do poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato).....	21
3.3.1.2 Sistema S2: micropartículas contendo cloridrato de metformina, obtidas pelo método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico, a partir de polímeros (met)acrílicos e/ou celulósico.....	23
3.3.1.3 Sistema S3: micropartículas contendo cloridrato de metformina, preparadas pelo método de secagem por aspersão, a partir de polímeros (met)acrílicos e/ou celulósico.....	25

3.3.1.4 Sistema S4: micropartículas contendo cloridrato de metformina, desenvolvidas pelo método de secagem por aspersão, a partir do sistema reticulado constituído por poli(álcool vinílico), β -ciclodextrina e glutaraldeído.....	27
3.3.1.5 Misturas físicas.....	30
3.3.2 Rendimento.....	30
3.3.2.1 Sistema S1.....	30
3.3.2.2 Sistema S2.....	30
3.3.2.3 Sistema S3.....	31
3.3.2.4 Sistema S4.....	31
3.3.3 Determinação do teor de umidade.....	31
3.3.4 Determinação do cloridrato de metformina incorporado nas micropartículas.....	32
3.3.4.1 Validação do método analítico para a quantificação do MetHCl presente nas micropartículas dos sistemas poliméricos em estudo.....	32
3.3.4.2 Determinação do cloridrato de metformina incorporado nas micropartículas do Sistema S1.....	34
3.3.4.3 Determinação do cloridrato de metformina incorporado nas micropartículas dos Sistemas S2 e S3.....	34
3.3.4.4 Determinação do cloridrato de metformina incorporado nas micropartículas do Sistema S4.....	35
3.3.5 Caracterização dos sistemas poliméricos microparticulados.....	35
3.3.5.1 Análises morfológicas e de superfície.....	35
3.3.5.2 Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica.....	36
3.3.5.3 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho.....	37
3.3.5.4 Análise térmica.....	37
3.3.5.5 Avaliação por espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	38
3.3.6 Estudo de liberação <i>in vitro</i>.....	38
3.3.6.1 Avaliação dos perfis de liberação.....	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1 SISTEMA S1: MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLORIDRATO DE METFORMINA, FORMULADAS PELO MÉTODO DE EMULSÃO MÚLTIPLA E EVAPORAÇÃO DO SOLVENTE ORGÂNICO, A PARTIR DO POLI(3-HIDROXIBUTIRATO-CO-3-HIDROXIVALERATO).....	42

4.1.1	Rendimento.....	42
4.1.2	Eficiência de encapsulação.....	43
4.1.2.1	Validação do método analítico para a quantificação do MetHCl presente nas micropartículas do sistema S1	43
4.1.2.2	Recuperação do MetHCl presente nas micropartículas.....	44
4.1.3	Avaliação das alterações propostas ao método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico.....	46
4.1.4	Determinação do teor de umidade.....	47
4.1.5	Análises morfológicas e de superfície.....	48
4.1.6	Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica.....	53
4.1.7	Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho.....	54
4.1.8	Análise térmica.....	56
4.1.9	Estudo de liberação <i>in vitro</i>.....	57
4.2	SISTEMA S2: MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLORIDRATO DE METFORMINA, OBTIDAS PELO MÉTODO DE EMULSÃO EM MEIO NÃO AQUOSO E EVAPORAÇÃO DO SOLVENTE ORGÂNICO, A PARTIR DE POLÍMEROS (MET)ACRÍLICOS E/OU CELULÓSICO.....	60
4.2.1	Rendimento e eficiência de encapsulação.....	61
4.2.2	Determinação do teor de umidade.....	62
4.2.3	Análises morfológicas e de superfície.....	63
4.2.4	Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica.....	68
4.2.5	Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho.....	70
4.2.6	Estudo de liberação <i>in vitro</i>.....	73
4.3	SISTEMA S3: MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLORIDRATO DE METFORMINA, PREPARADAS PELO MÉTODO DE SECAGEM POR ASPERSÃO, A PARTIR DE POLÍMEROS (MET)ACRÍLICOS E/OU CELULÓSICO.....	79
4.3.1	Rendimento.....	80
4.3.2	Eficiência de encapsulação.....	81
4.3.2.1	Validação do método analítico para a quantificação do MetHCl presente nas micropartículas dos sistemas S2 e S3.....	81
4.3.2.2	Taxa de recuperação do MetHCl presente nas micropartículas.....	83

4.3.3	Determinação do teor de umidade.....	83
4.3.4	Análises morfológicas e de superfície.....	85
4.3.5	Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica.....	89
4.3.6	Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho.....	92
4.3.7	Estudo de liberação <i>in vitro</i>.....	95
4.4	SISTEMA S4: MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLORIDRATO DE METFORMINA, DESENVOLVIDAS PELO MÉTODO DE SECAGEM POR ASPERSÃO, A PARTIR DO SISTEMA RETICULADO CONSTITUÍDO POR POLI(ÁLCOOL VINÍLICO), β-CICLODEXTRINA E GLUTARALDEÍDO.....	100
4.4.1	Rendimento.....	100
4.4.2	Eficiência de encapsulação.....	102
4.4.2.1	Validação do método analítico para a quantificação do MetHCl presente nas micropartículas do sistema S4.....	102
4.4.2.2	Taxa de recuperação do MetHCl presente nas micropartículas.....	103
4.4.3	Determinação do teor de umidade.....	104
4.4.4	Análises morfológicas e de superfície.....	105
4.4.5	Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica.....	113
4.4.6	Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho.....	116
4.4.7	Avaliação por espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	122
4.4.8	Estudo de liberação <i>in vitro</i>.....	126
5	CONCLUSÕES.....	138
	REFERÊNCIAS.....	140

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Variações nas formulações de micropartículas.....	02
Figura 02 – Estrutura química do PHB e PHBV.....	05
Figura 03 – Estrutura química do poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila). 06	
Figura 04 – Estrutura química da hidroxipropilmetilcelulose.....	07
Figura 05 – Estrutura química do poli(álcool vinílico).....	09
Figura 06 – Estrutura química da α -D-glucopirranose na conformação cadeira com as posições indicadas, estrutura química da β -ciclodextrina e representação esquemática da estrutura tridimensional das ciclodextrinas.....	10
Figura 07 – Estrutura química do cloridrato de metformina.....	11
Figura 08 – Esquema de formação de micropartículas poliméricas contendo MetHCl pelo método de emulsão múltipla e evaporação do solvente (sistema S1).....	22
Figura 09 – Esquema de preparação de micropartículas poliméricas contendo MetHCl pelo método de emulsão não aquosa e evaporação do solvente (sistema S2).....	24
Figura 10 – Esquema de obtenção de micropartículas poliméricas contendo MetHCl pelo método de secagem por aspersão (sistema S3).....	26
Figura 11 – Esquema de preparação dos materiais reticulados que formam o sistema S4.....	28
Figura 12 – Representação gráfica da curva analítica padrão para determinação do MetHCl obtida por espectrofotometria UV-Vis em água destilada.....	43
Figura 13 – Aspectos morfológicos do MetHCl puro e do PHBV puro por MEV.....	49
Figura 14 – Aspectos morfológicos, obtidos por MEV, das micropartículas do sistema S1.....	50
Figura 15 – Difractogramas do MetHCl, do PHBV e da mistura física (MF) binária..	51
Figura 16 – Difractogramas das micropartículas que formam o sistema S1.....	51
Figura 17 – Distribuição granulométrica obtida para as micropartículas do sistema S1.....	54
Figura 18 – Espectros IVTF do MetHCl, do PHBV, da mistura física e das micropartículas que formam o sistema S1.....	55

Figura 19 – Termogramas obtidos por CED para o MetHCl, PHBV, mistura física e micropartículas S1M4, S1M5 e S1M9.....	56
Figura 20 – Curvas de ATG do MetHCl, do PHBV, da mistura física e das micropartículas S1M4, S1M5 e S1M9.....	57
Figura 21 – Perfis de liberação <i>in vitro</i> do fármaco MetHCl e das micropartículas S1M9 em fluido gástrico simulado, empregando o sistema de células de fluxo.....	58
Figura 22 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para o MetHCl puro e para as micropartículas S1M9, com base na modelagem matemática a partir dos perfis de liberação <i>in vitro</i>	59
Figura 23 – Aspectos morfológicos das micropartículas do sistema S2, visualizados por MEV.....	64
Figura 24 – Difratomogramas do MetHCl, do polímero de partida Eud S100, da mistura física e das micropartículas S2M1 e S2M6 que integram o sistema S2.....	65
Figura 25 – Difratomogramas do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Eud RS100, da mistura física e das micropartículas S2M2 e S2M7 que compõem o sistema S2.....	66
Figura 26 – Difratomogramas do MetHCl, do polímero de partida Eud RS100, da mistura física e das micropartículas S2M3 e S2M8 que formam o sistema S2.....	66
Figura 27 – Difratomogramas do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Meth F4M, da mistura física e das micropartículas S2M4 e S2M9 que constituem sistema S2.....	67
Figura 28 – Difratomogramas do MetHCl, do polímero de partida Meth F4M, da mistura física e das micropartículas S2M5 e S2M10 que fazem parte do sistema S2.....	67
Figura 29 – Distribuição granulométrica obtida para as micropartículas do sistema S2.....	69
Figura 30 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Eud S100, da mistura física e das micropartículas S2M1 e S2M6 que integram o sistema S2.....	70
Figura 31 – Espectros IVTF do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Eud RS100, da mistura física e das micropartículas S2M2 e S2M7 que compõem o sistema S2.....	71
Figura 32 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Eud RS100, da mistura física e das micropartículas S2M3 e S2M8 que formam o sistema S2.....	71

Figura 33 – Espectros IVTF do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Meth F4M, da mistura física e das micropartículas S2M4 e S2M9 que constituem sistema S2.....	72
Figura 34 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Meth F4M, da mistura física e das micropartículas S2M5 e S2M10 que fazem parte do sistema S2.....	72
Figura 35 – Comparação entre o perfil de liberação <i>in vitro</i> do fármaco MetHCl e dos materiais do sistema S2 em fluido gástrico simulado e em tampão fosfato, através do sistema de células de fluxo.....	73
Figura 36 – Perfis de liberação <i>in vitro</i> do fármaco MetHCl e das formulações do sistema S2 em fluido gástrico simulado, obtidos por meio do sistema de células de fluxo.....	74
Figura 37 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para o MetHCl puro e para as formulações do sistema S2, com base na modelagem matemática, a partir dos perfis de liberação <i>in vitro</i>	76
Figura 38 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais à modelagem matemática da equação de Korsmeyer-Peppas para os materiais do sistema S2.	78
Figura 39 – Representação gráfica da curva analítica padrão para determinação do MetHCl obtida por espectrofotometria UV-Vis em tampão fosfato.....	82
Figura 40 – Aspectos morfológicos das micropartículas do sistema S3, obtidos por MEV.....	86
Figura 41 – Difractogramas do MetHCl, do polímero de partida Eud S100, da mistura física e das micropartículas S3M1 e S3M6 que integram o sistema S3.....	87
Figura 42 – Difractogramas do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Eud RS30D, da mistura física e das micropartículas S3M2 e S3M7 que compõem o sistema S3.....	87
Figura 43 – Difractogramas do MetHCl, do polímero de partida Eud RS30D, da mistura física e das micropartículas S3M3 e S3M8 que formam o sistema S3.....	88
Figura 44 – Difractogramas do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Meth F4M, da mistura física e das micropartículas S3M4 e S3M9 que constituem sistema S3.....	88
Figura 45 – Difractogramas do MetHCl, do polímero de partida Meth F4M, da mistura física e das micropartículas S3M5 e S3M10 que fazem parte do sistema S3.....	89
Figura 46 – Distribuição granulométrica obtida para as micropartículas do sistema S3.....	91

Figura 47 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Eud S100, da mistura física e das micropartículas S3M1 e S3M6 que integram o sistema S3.....	92
Figura 48 – Espectros IVTF do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Eud RS30D, da mistura física e das micropartículas S3M2 e S3M7 que compõem o sistema S3.....	93
Figura 49 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Eud RS30D, da mistura física e das micropartículas S3M3 e S3M8 que formam o sistema S3.....	93
Figura 50 – Espectros IVTF do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Meth F4M, da mistura física e das micropartículas S3M4 e S3M9 que constituem sistema S3.....	94
Figura 51 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Meth F4M, da mistura física e das micropartículas S3M5 e S3M10 que fazem parte do sistema S3.....	94
Figura 52 – Comparação entre o perfil de liberação <i>in vitro</i> do fármaco MetHCl e das micropartículas do sistema S3 em fluido gástrico simulado e em tampão fosfato, empregando o sistema de células de fluxo.....	96
Figura 53 – Perfis de liberação <i>in vitro</i> do fármaco MetHCl e das formulações do sistema S3 em fluido gástrico simulado, obtidos por meio do sistema de células de fluxo.....	97
Figura 54 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para o MetHCl puro e para as micropartículas do sistema S3, com base na modelagem matemática a partir dos perfis de liberação <i>in vitro</i>	98
Figura 55 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais à modelagem matemática da equação de Korsmeyer-Peppas para as formulações do sistema S3.....	99
Figura 56 – Representação gráfica da curva analítica padrão para determinação do MetHCl obtida por espectrofotometria UV-Vis em metanol.....	102
Figura 57 – Aspectos morfológicos, revelados por MEV, para as micropartículas do sistema S4.....	106
Figura 58 – Aspectos morfológicos, obtidos por MEV, para as micropartículas do sistema S4.....	107
Figura 59 – Difrátogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M1 e S4M9 que integram o sistema S4.....	108
Figura 60 – Difrátogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M2 e S4M10 que compõem o sistema S4.....	108

Figura 61 – Difrátogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M3 e S4M11 que formam o sistema S4.....	109
Figura 62 – Difrátogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M4 e S4M12 que constituem o sistema S4.....	109
Figura 63 – Difrátogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M5 e S4M13 que fazem parte do sistema S4.....	110
Figura 64 – Difrátogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M6 e S4M14 que integram o sistema S4.....	110
Figura 65 – Difrátogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M7 e S4M15 que compõem o sistema S4.....	111
Figura 66 – Difrátogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M8 e S4M16 que formam o sistema S4.....	111
Figura 67 – Difrátogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD e das micropartículas S4M17, S4M18, S4M19 e S4M20 que constituem o sistema S4.....	112
Figura 68 – Distribuição granulométrica obtida para as micropartículas do sistema S4.....	114
Figura 69 – Distribuição granulométrica verificada para as micropartículas do sistema S4.....	115
Figura 70 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M1 e S4M9.....	117
Figura 71 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M2 e S4M10 que compõem o sistema S4.....	118
Figura 72 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M3 e S4M11 que formam o sistema S4.....	118
Figura 73 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M4 e S4M12 que constituem o sistema S4.....	119
Figura 74 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M5 e S4M13 que fazem parte do sistema S4.....	119
Figura 75 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M6 e S4M14 que integram o sistema S4.....	120
Figura 76 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M7 e S4M15 que compõem o sistema S4.....	120
Figura 77 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física e das micropartículas S4M8 e S4M16 que formam o sistema S4.....	121

Figura 78 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD e das micropartículas S4M17, S4M18, S4M19 e S4M20 que constituem o sistema S4.....	121
Figura 79 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, das micropartículas S4M1.....	122
Figura 80 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, das micropartículas S4M2.....	123
Figura 81 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, das micropartículas S4M7.....	123
Figura 82 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, das micropartículas S4M8.....	124
Figura 83 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, do produto reticulado complementar, obtido na ausência da β -CD.....	124
Figura 84 – Comparação entre o perfil de liberação <i>in vitro</i> do fármaco MetHCl e das micropartículas do sistema S4 em fluido gástrico simulado e em tampão fosfato, empregando o sistema de células de fluxo.....	126
Figura 85 – Comparação entre o perfil de liberação <i>in vitro</i> do fármaco MetHCl e das micropartículas do sistema S4 em fluido gástrico simulado e em tampão fosfato, utilizando o sistema de células de fluxo.....	127
Figura 86 – Gráfico resultante do ajuste dos dados experimentais para o MetHCl puro a partir do perfil de liberação <i>in vitro</i> , considerando a modelagem matemática da equação monoexponencial.....	130
Figura 87 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para as micropartículas do sistema S4, com base na modelagem matemática a partir dos perfis de liberação <i>in vitro</i>	131
Figura 88 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para as formulações do sistema S4, com base na modelagem matemática a partir dos perfis de liberação <i>in vitro</i>	132
Figura 89 – Esquema do mecanismo de adição nucleofílica proposto para os materiais do sistema S4.....	133
Figura 90 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais à modelagem matemática da equação de Korsmeyer-Peppas para as formulações S4M9, S4M10, S4M11, S4M12, S4M13 e S4M14.....	135

Figura 91 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais à modelagem matemática da equação de Korsmeyer-Peppas para as formulações S4M15, S4M16, S4M17, S4M18, S4M19 e S4M20..... 136

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Benefícios resultantes da microencapsulação.....	03
Tabela 02 – Diferentes métodos usados para a microencapsulação.....	03
Tabela 03 – Composição das formulações de micropartículas poliméricas contendo MethCl a partir do PHBV (formulações S1M1 a S1M4).....	21
Tabela 04 – Composição das formulações de micropartículas poliméricas contendo MethCl a partir do PHBV (formulações S1M5 a S1M9).....	23
Tabela 05 – Composição das formulações de micropartículas poliméricas contendo MethCl a partir dos polímeros met(acrílicos) e/ou celulósico (sistema S2).....	25
Tabela 06 – Composição das formulações de micropartículas poliméricas contendo MethCl a partir dos polímeros met(acrílicos) e/ou celulósico (sistema S3).....	26
Tabela 07 – Variáveis, níveis e combinações indicadas para a obtenção dos materiais reticulados a partir do sistema PVAI/ β -CD/GAI (sistema S4).....	28
Tabela 08 - Composição das formulações de micropartículas poliméricas a partir dos materiais reticulados entre PVAI/ β -CD/GAI (sistema S4).....	29
Tabela 09 – Rendimento obtido para as formulações S1M1 a S1M4, a partir do método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico.....	42
Tabela 10 – Valores experimentais obtidos nos ensaios de repetibilidade e precisão intermediária.....	44
Tabela 11 – Teor e eficiência de encapsulação do MethCl nas micropartículas S1M1 a S1M4.....	44
Tabela 12 – Alterações experimentais, rendimento, teor e eficiência de encapsulação do MethCl nas micropartículas S1M5 a S1M9.....	46
Tabela 13 – Teor de água obtido para o MethCl, para o PHBV e para as micropartículas do sistema S1.....	48
Tabela 14 – Cristalinidade calculada para o PHBV e para as micropartículas do sistema S1, indicando o teor de MethCl incorporado em cada formulação.....	52
Tabela 15 – Diâmetro médio e <i>span</i> (dispersão granulométrica) para as micropartículas do sistema S1, indicando o teor de MethCl incorporado em cada material.....	53

Tabela 16 – Rendimento, teor de incorporação e eficiência de encapsulação obtidos para as formulações do sistema S2, a partir do método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico.....	61
Tabela 17 – Teor de água verificado para o MetHCl e para as micropartículas do sistema S2.....	62
Tabela 18 – Diâmetro médio e <i>span</i> (dispersão granulométrica) para as micropartículas do sistema S2, indicando o teor de MetHCl incorporado em cada material.....	68
Tabela 19 – Rendimento obtido para as formulações S3M1 a S3M10, a partir do método de secagem por aspersão (sistema S3).....	80
Tabela 20 – Valores experimentais obtidos nos ensaios de repetibilidade e de precisão intermediária.....	82
Tabela 21 – Teor e eficiência de encapsulação do MetHCl nas micropartículas de S3M1 a S3M5.....	83
Tabela 22 – Teor de água obtido para o MetHCl e para as micropartículas do sistema S3.....	84
Tabela 23 – Diâmetro médio e <i>span</i> (dispersão granulométrica) para as micropartículas do sistema S3, indicando o teor de MetHCl incorporado em cada material.....	90
Tabela 24 – Rendimento obtido para as formulações de S4M1 a S4M20, a partir do método de secagem por aspersão.....	101
Tabela 25 – Valores experimentais obtidos nos ensaios de repetibilidade e de precisão intermediária.....	103
Tabela 26 – Teor e eficiência de encapsulação do MetHCl nas micropartículas do sistema S4.....	103
Tabela 27 – Teor de água verificado para as micropartículas do sistema S4.....	104
Tabela 28 – Diâmetro médio e <i>span</i> (dispersão granulométrica) para as micropartículas do sistema S4, indicando o teor de MetHCl incorporado em cada material.....	113
Tabela 29 – Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2^3 , a partir do delineamento proposto ao sistema S4.....	128

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A_a	área correspondente à região amorfa
a e b	constantes que incorporam as características estruturais e geométricas da forma farmacêutica
A e B	concentrações iniciais do fármaco que contribuem para as duas fases de dissolução na equação biexponencial
α e β	constante cinética de dissolução para a equação biexponencial
ANOVA	análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
A/O/A	emulsão múltipla água em óleo em água
A_t	área total
ATG	análise termogravimétrica
β -CD	β -ciclodextrina
CED	calorimetria exploratória diferencial
CV%	coeficiente de variação percentual
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
DP	desvio padrão
DPR	desvio padrão relativo
$d_{(v,10)}$	diâmetro das partículas correspondente a 10 % da distribuição acumulada
$d_{(v,50)}$	diâmetro das partículas correspondente a 50 % da distribuição acumulada
$d_{(v,90)}$	diâmetro das partículas correspondente a 90 % da distribuição acumulada
ED	eficiência de dissolução
Eud RS100	Eudragit® RS 100 [cloreto de poli(metacrilato de trimetilamonoetila-co-metacrilato de metila-co-acrilato de etila)]
Eud RS30D	Eudragit® RS 30 D [dispersão aquosa de cloreto de poli(metacrilato de trimetilamonioetila-co-metacrilato de metila-co-acrilato de etila) 30 % (m/m), contendo 0,25 % (m/m) de ácido sórbico e 0,1 % (m/m) de hidróxido de sódio]

Eud S100	Eudragit® S 100 [poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila]
FAE	fase aquosa externa
FO	fase orgânica
ft	fração do fármaco dissolvido no tempo t
GAI	glutaraldeído
HPMC	hidroxipropilmetilcelulose
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i>
IVTF	infravermelho com transformada de Fourier
k	constante cinética de dissolução para as equações monoexponencial e de ordem zero
LD	limite de detecção
LQ	limite de quantificação
MethHCl	cloridrato de metformina (MetHCl)
Meth F4M	Methocel® F4M (hidroxipropilmetilcelulose)
MEV	microscopia eletrônica de varredura
MF	mistura física
MQG	variância dentro dos grupos
MQR	variância das médias
MSC	critério de seleção do modelo
n	número de repetições
n	expoente de liberação
O/A	emulsão óleo em água
O/O	emulsões óleo em óleo
PCL	poli(ε -caprolactona)
PEO	poli(óxido de etileno)
PHAs	poli(hidroxialcanoatos)
PHB	poli(3-hidroxibutirato)
PHBV	poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)
PLA	poli(ácido láctico)
PLGA	poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)
PVAI	poli(álcool vinílico)
PVP	poli(vinilpirrolidona)
r	coeficiente de correlação
RMN ^{13}C	ressonância magnética nuclear de ^{13}C carbono

sistema S1	micropartículas contendo cloridrato de metformina, formuladas pelo método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico, a partir do poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)
sistema S2	micropartículas contendo cloridrato de metformina, obtidas pelo método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico, a partir de polímeros (met)acrílicos e/ou celulósico
sistema S3	micropartículas contendo cloridrato de metformina, preparadas pelo método de secagem por aspersão, a partir de polímeros (met)acrílicos e/ou celulósico
sistema S4	micropartículas contendo cloridrato de metformina, desenvolvidas pelo método de secagem por aspersão, a partir do sistema reticulado constituído por poli(álcool vinílico), β -ciclodextrina e glutaraldeído
<i>span</i>	dispersão granulométrica
Span [®] 80	monooleato de sorbitano
<i>t</i>	tempo
<i>Td</i>	tempo no qual 63,2 % do fármaco está dissolvido
<i>T_g</i>	temperatura de transição vítrea
<i>T_m</i>	evento térmico de fusão
Tween [®] 80	polissorbato 80, monooleato de sorbitano etoxilado
UV-Vis	espectrofotometria na região do ultravioleta-visível
%C	grau de cristalinidade
%D	porcentagem de dissolução

RESUMO

O cloridrato de metformina (MetHCl) é um fármaco amplamente usado no tratamento do *Diabetes mellitus* tipo 2, da síndrome do ovário policístico e da obesidade. Além disso, o MetHCl é um modelo hidrofílico que pode ser utilizado no desenvolvimento de sistemas de liberação modificada de fármacos, devido à elevada incidência de sintomas gastrintestinais concomitantes, como o desconforto abdominal, a náusea e a diarreia, decorrentes do uso de formas farmacêuticas convencionais. O objetivo do presente trabalho foi obter micropartículas a partir de diferentes materiais poliméricos, na presença e na ausência do MetHCl, pelos métodos de emulsão/evaporação do solvente e de secagem por aspersão. Foram elaborados quatro sistemas, para os quais, estudos morfológicos, térmicos, espectrométricos e de liberação do fármaco foram realizados, com o propósito de caracterizar as diferentes formulações. As micropartículas de PHBV foram preparadas com sucesso pela técnica de emulsão múltipla/evaporação do solvente (sistema S1), sendo que as mesmas revelaram formato esférico com superfície rugosa. Um valor adequado para a eficiência de encapsulação (9,76 %) do MetHCl foi verificado quando um meio alcalino (pH = 12,0), na presença simultânea de NaCl, foi utilizado como fase aquosa externa. Micropartículas baseadas em polímeros met(acrílicos) e na hidroxipropilmetilcelulose foram obtidas pelos métodos de emulsão em meio não aquoso/evaporação do solvente (sistema S2) e de secagem por aspersão (sistema S3). Para o sistema S2, aglomerados de micropartículas esféricas e semi-esféricas foram observados, enquanto que, partículas semelhantes a eritrócitos representaram a principal morfologia encontrada no sistema S3. As eficiências de encapsulação foram maiores do que 90 % para ambos os métodos. Micropartículas contendo o MetHCl e as respectivas formulações controle foram elaboradas por meio de secagem por aspersão a partir do poli(álcool vinílico), da β -ciclodextrina e do glutaraldeído, compondo materiais reticulados (sistema S4). Essas partículas apresentaram geometria esférica com a presença de concavidades ou como estruturas fundidas. Valores de eficiência de encapsulação entre 97,0 e 109,1 % foram encontrados para esses produtos. Em geral, as análises efetuadas por difração de raio-X, por espectroscopia na região do infravermelho e por calorimetria exploratória diferencial demonstraram que o MetHCl se encontrava fisicamente disperso nos polímeros, constituindo dispersões moleculares ou formando domínios nas estruturas das micropartículas. Os estudos de liberação *in vitro* do fármaco comprovaram a influência dos materiais poliméricos na modificação do perfil de dissolução do MetHCl. Com relação aos valores de eficiência de dissolução, as condições ótimas de reação foram estabelecidas para o sistema S4, através de um planejamento fatorial, no qual a variável glutaraldeído revelou o efeito mais importante. Considerando a modelagem matemática, a equação de Korsmeyer-Peppas indicou que o mecanismo de liberação, para a maioria dos sistemas microparticulados desenvolvidos, foi governado pelo processo de erosão da matriz polimérica ou pelo transporte anômalo.

ABSTRACT

Metformin hydrochloride (MetHCl) is a drug widely used for the treatment of type 2 *Diabetes*, polycystic ovary syndrome and obesity. Furthermore MetHCl is a hydrophilic model that can be used in controlled drug release systems due to the high incidence of concomitant gastrointestinal symptoms, such as abdominal discomfort, nausea and diarrhea caused by the conventional pharmaceutical dosage forms. The aim of this work was to obtain MetHCl-loaded and unloaded microparticles from different polymeric materials by the emulsion/solvent evaporation and spray-drying methods. Morphological, thermal, spectrometrical and drug release studies were performed to evaluate the microparticulated formulations from four different systems previously prepared. PHBV microparticles were successfully obtained by the double emulsion/solvent evaporation technique (system S1). Particles were spherically shaped with a rough surface. An adequate encapsulation efficiency value (9.76 %) for MetHCl was verified using simultaneously an alkaline medium (pH = 12.0) and the presence of NaCl in the external water phase. Meth(acrylic) and hydroxypropyl methylcellulose microparticles were prepared by the non-aqueous emulsion/solvent evaporation (system S2) and spray-drying (system S3) methods. For the system S2, agglomerates of spherical and semi-spherical microparticles were obtained. However erythrocytes-like particles were mainly achieved in the system S3. Encapsulation efficiencies higher than 90 % were reported for these both methods. MetHCl-loaded and unloaded microparticles were formulated by spray-drying from the poly(vinyl alcohol), β -cyclodextrin and glutaraldehyde as crosslinked materials (system S4). Particles showed spherical geometry with concavities or melted structures were observed. Encapsulation efficiencies between 97.0 and 109.1 % were achieved. In general, X-ray diffraction, Fourier-transformed infrared and differential scanning calorimetry analyses demonstrated that MetHCl was physically dispersed into the polymers as molecular dispersion or domains. *In vitro* drug release showed the influence of the polymeric materials on the delay of the dissolution profile of MetHCl. Regarding the dissolution efficiency the enhanced reaction conditions were established for system S4 by a factorial plan in which the glutaraldehyde showed a higher effect. Concerning the mathematical modeling the Korsmeyer-Peppas model indicated that the release mechanism was mainly governed by swelling of polymer or by an anomalous transport.

1 INTRODUÇÃO

1.1 MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA DE FÁRMACOS

As tecnologias de liberação controlada de fármacos representam uma das áreas mais promissoras da ciência, envolvendo estudos multidisciplinares, com o objetivo de contribuir à saúde humana e animal. Esses sistemas de liberação oferecem numerosas vantagens, comparados às formas farmacêuticas convencionais, que incluem a modulação da eficiência de dissolução, a redução da toxicidade e o aumento da adesão e da conveniência do paciente (OLIVEIRA & LIMA, 2006; AULTON, 2005; HAZNEDAR & DORTUNÇ, 2004; RAVI KUMAR, 2000).

Nesse contexto, micropartículas poliméricas têm sido amplamente investigadas como sistemas de liberação de compostos bioativos, como fármacos antiinflamatórios (BECK *et al.*, 2007; KRISHNAMACHARI, MADAN & LIN, 2007; RATTES & OLIVEIRA, 2007; HUANG *et al.*, 2006; FERNÁNDEZ-CARBALLIDO *et al.*, 2004), fármacos antineoplásicos (ELKHARRAZ *et al.*, 2006; JIANG *et al.*, 2005; MU *et al.*, 2005; GUPTA & CIFTCI, 2004; BRIGGER, DUBERNET & COUVREUR, 2002; BOISDRON-CELLE, MENEI & BENOIT, 1995; VERRIJK *et al.*, 1992), agentes analgésicos e anestésicos (MORALES *et al.*, 2007; CHUNG, HUANG & LIU, 2001), agentes antimicrobianos (HACHICHA, KODJIKIAN & FESSI, 2006; JELVEHGARI *et al.*, 2006; YUE *et al.*, 2004), bem como peptídeos terapêuticos (MEISSNER *et al.*, 2007; LAGARCE *et al.*, 2006; BLANCO-PRÍETO *et al.*, 2004; COUVREUR *et al.*, 1997; JAYANTHI *et al.*, 1997), proteínas (IEMMA *et al.*, 2006; MEINEL *et al.*, 2001; COHEN *et al.*, 1991), DNA (DÍEZ & TROS DE ILARDUYA, 2006; CAPAN *et al.*, 1999; HSU, HAO & HEDLEY, 1999) e compostos derivados de vírus (LAMEIRO *et al.*, 2006; PÁLINKÓ-BIRÓ *et al.*, 2001; STURESSON *et al.*, 1999) e bactérias (REN *et al.*, 2002; KOFLER *et al.*, 1996).

O termo “micropartícula” refere-se, basicamente, a uma partícula com diâmetro variando entre 1 e 1000 µm, independente da definição de sua estrutura interior ou exterior. Dentro da classificação adotada pela literatura, as microesferas representam os sistemas esféricos, enquanto que o vocábulo microcápsula é

aplicado às partículas que apresentam um núcleo envolvido por um material diferenciado, normalmente de origem polimérica (GHOSH, 2006; YOSHIKAWA, 2004; BIRNBAUM & BRANNON-PEPPAS, 2003; RAVI KUMAR, 2000; ARSHADY, 1999; DEASY, 1984).

Além disso, é usual estabelecer que uma formulação descrita como uma microesfera é constituída por uma mistura bastante homogênea entre o material polimérico e o agente ativo, considerando que as microcápsulas têm pelo menos um domínio discreto da substância ativa. Algumas variações dos sistemas microparticulados estão indicadas na Figura 01. Quando os domínios e subdomínios do fármaco ou do agente biologicamente ativo se tornam progressivamente menores nas microcápsulas, as estruturas passam a ser definidas, caso sejam esféricas, como microesferas (GHOSH, 2006; YOSHIKAWA, 2004; BIRNBAUM & BRANNON-PEPPAS, 2003).

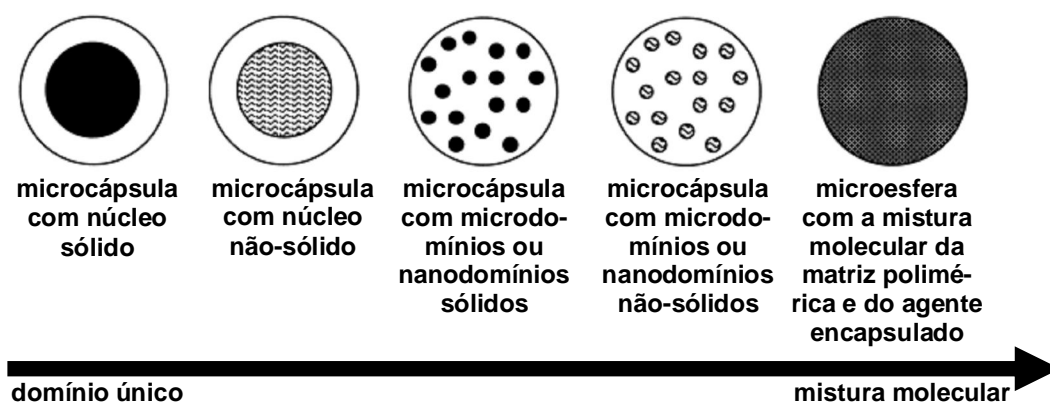


Figura 01 – Variações nas formulações de micropartículas (adaptado de BIRNBAUM & BRANNON-PEPPAS, 2003)

As micropartículas apresentam diversas vantagens, sendo que as principais razões para a microencapsulação estão sumarizadas na Tabela 01. Indicadas para a administração oral, parenteral, nasal ou pulmonar, as micropartículas são capazes de promover uma liberação prolongada, retardada ou sustentada de um composto bioativo, enquanto que o material não liberado permanece protegido da degradação e do metabolismo fisiológico (RAFFIN *et al.*, 2007; GHOSH, 2006; FREITAS, MERKLE & GANDER, 2005; YOSHIKAWA, 2004; BIRNBAUM & BRANNON-PEPPAS, 2003). Também, considerando a diversidade de polímeros naturais, semi-sintéticos e sintéticos, é possível a elaboração de materiais microestruturados com

características particulares, empregados como sistemas de liberação sítio-específica de fármacos (GHOSH, 2006; RAVI KUMAR, 2000; DEASY, 1984).

Tabela 01 – Benefícios resultantes da microencapsulação

<ul style="list-style-type: none"> – proteção de materiais instáveis ou sensíveis ao ambiente recomendado para uso; – melhor processamento, otimizando a solubilidade, a dispersibilidade ou as características de fluxo; – incremento do prazo de validade, com a prevenção de reações de degradação, como a oxidação e a hidrólise; – manipulação segura e conveniente de materiais tóxicos; – proteção contra o odor ou o sabor desagradável do agente ativo; – imobilização de enzimas ou microrganismos; – disponibilização de líquidos encapsulados em materiais sólidos; – liberação prolongada, retardada, sítio-específica ou sustentada de fármacos.

Em geral, os métodos de microencapsulação são divididos em dois grupos, os processos químicos e os físicos (GHOSH, 2006; FREIBERG & ZHU, 2004). Dentre os processos físicos, é possível estabelecer a subdivisão em procedimentos físico-químicos e físico-mecânicos (ARIDA & AL-TABAKHA, 2007; DUARTE *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2007; GHOSH, 2006; XIE *et al.*, 2006; ROSCA, WATARI & UO, 2004; SIEPMANN *et al.*, 2004; BIRNBAUM & BRANNON-PEPPAS, 2003; MENG *et al.*, 2003; DEASY, 1984). Alguns dos métodos mais importantes na obtenção de materiais microparticulados estão citados na Tabela 02.

Tabela 02 – Diferentes métodos usados para a microencapsulação

<i>Processos químicos</i>	<i>Processos físicos</i>	
	<i>Físico-químicos</i>	<i>Físico-mecânicos</i>
– policondensação interfacial	– automontagem (<i>layer-by-layer assembly</i>)	– encapsulação em disco rotativo
– polimerização em emulsão	– coacervação	– extrusão
– polimerização em suspensão	– emulsão/evaporação do solvente	– secagem por aspersão (<i>spray-drying</i>)
	– emulsão/extração do solvente	– secagem por leito fluidizado
	– expansão de fluido supercrítico (CO ₂)	

A expressiva maioria dos métodos empregados na microencapsulação de fármacos em matrizes poliméricas envolve o uso de emulsões. Uma definição simples para o termo emulsão consiste na dispersão de duas fases imiscíveis, estabilizadas por um sistema tensoativo. Nesse contexto, o procedimento mais

utilizado na obtenção de micropartículas é o de emulsão óleo em água (O/A), com posterior evaporação do solvente orgânico. Entretanto, o uso de emulsões óleo em óleo (O/O), emulsões múltiplas e emulsões contendo fase sólida dispersa também está relatado na literatura como estratégias para a elaboração de materiais microparticulados destinados à liberação modificada de moléculas biologicamente ativas (GIOVAGNOLI *et al.*, 2007; VIRTO *et al.*, 2007; CHOIGNOT *et al.*, 2006; PATEL, RAY & THAKUR, 2006; RAFFIN *et al.*, 2006a; AULTON, 2005; FREITAS, MERKLE & GANDER, 2005; LIU *et al.*, 2005; MATEOVIĆ-ROJNIK *et al.*, 2005; THOTE & GUPTA, 2005; MAIA, SANTANA & RÉ, 2004; PELTONEN *et al.*, 2004; ROSCA, WATARI & UO, 2004; MENG *et al.*, 2003; LIMA, SILVA & RODRIGUES JÚNIOR, 2000; COUVREUR *et al.*, 1997; HERRMANN & BODMEIER, 1995; ALEX & BODMEIER, 1990; JALIL & NIXON, 1990a; JALIL & NIXON, 1990b; DEASY, 1984).

Considerando a necessidade da redução de custos e da transposição de escala, o procedimento de secagem por aspersão ou *spray-drying* tem sido recomendado para a formação de micropartículas voltadas à liberação controlada de substâncias bioativas (RATTES & OLIVEIRA, 2007; VEHRING, FOSS & LECHUGA-BALLESTEROS, 2007; GHOSH, 2006; PEREIRA *et al.*, 2006; RAFFIN *et al.*, 2006b; LO, TSAI & KUO, 2004; BILLON *et al.*, 2002; PALMIERI *et al.*, 2001; BILLON *et al.*, 2000; ESPOSITO *et al.*, 2000; RÉ, 1998; DEASY, 1984). As partículas obtidas por *spray-drying* também estão sendo estudadas com o propósito de garantir propriedades de fluxo adequadas para certos excipientes de uso farmacêutico (ONEDA & RÉ, 2003).

Uma grande diversidade de polímeros pode ser utilizada para a formação de micropartículas, de acordo com a finalidade da formulação (RAVI KUMAR, 2000). Apresentando excelente biocompatibilidade, os poliésteres biodegradáveis poli(ácido láctico) (PLA) e poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) são os biomateriais considerados clássicos à formação de micropartículas contendo fármacos, peptídeos, proteínas e antígenos (ITO, FUJIMORI & MAKINO, 2007; KRANZ & BODMEIER, 2007; FAISANT *et al.*, 2006; HACHICHA, KODJIKIAN & FESSI, 2006; KLOSE *et al.*, 2006; CUI *et al.*, 2005; FREITAS, MERKLE & GANDER, 2005; LIU *et al.*, 2005; RUAN & FENG, 2003; UEDA & TABATA, 2003; ZHOU *et al.*, 2003; ANDERSON & SHIVE, 1997; BRANNON-PEPPAS, 1995; LAMBERT & PECK, 1995; CHULIA, DELEUIL & POURCELOT, 1994; LE CORRE *et al.*, 1994; WAGENAAR &

MÜLLER, 1994; EPPSTEIN & LONGENECKER, 1988; JUNI & NAKANO, 1987; SMITH & HUNNEYBALL, 1986; KITCHELL & WISE, 1985).

Entretanto, outros polímeros biodegradáveis têm sido avaliados, visando aumentar o número de materiais biocompatíveis para aplicações farmacêuticas e médicas (OLIVEIRA & LIMA, 2006; PICH *et al.*, 2006; HÄBERLEIN *et al.*, 2005; MAIA, SANTANA & RÉ, 2004). Entre eles, destacam-se os poliésteres termoplásticos de origem bacteriana poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV), genericamente conhecidos como poli(hidroxialcanoatos) (PHAs) (CHEN & WU, 2005; KÖSE *et al.*, 2005; SUN *et al.*, 2005; KÖSE *et al.*, 2003a; KÖSE *et al.*, 2003b; ROSSI, AZGHANI & OMRI, 2004; BARAN, ÖZER & HASIRCI, 2002; CHEN & DAVIS, 2002). As estruturas químicas desses materiais (Figura 02) são muito similares aos polímeros sintéticos biodegradáveis mais usuais (PLA e PLGA), porém são degradados, geralmente, em uma taxa mais lenta (AMASS, AMASS & TIGHE, 1998).

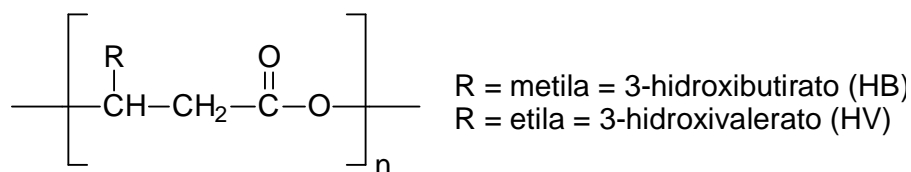


Figura 02 – Estrutura química do PHB e PHBV

O PHB é produzido como material de reserva energética por fermentação de uma variedade de cepas bacterianas, destacando-se a *Ralstonia eutropha* e a *Burkholderia saccharina*. É um poliéster semicristalino, com grande potencial como polímero biodegradável de alto consumo. A sua degradação ocorre por erosão da superfície, o que o faz um material atrativo para a aplicação na liberação controlada de bioativos. Adicionalmente, a liberação de fármacos de baixa massa molar, a partir do PHB e PHBV, pode se processar pela penetração de água e pela formação de poros nas matrizes poliméricas (COUTINHO *et al.*, 2004; MAIA, SANTANA & RÉ, 2004; BARAN, ÖZER & HASIRCI, 2002; POUTON & AKHTAR, 1996).

Os poli(metacrilatos) são polímeros acrílicos, amplamente difundidos na área farmacêutica, como agentes formadores de filmes. Esses materiais são comercialmente conhecidos como Eudragit®, pertencentes às séries E, L, S, RL, RS

e NE30D, possuindo diferentes estruturas químicas, com variadas características de solubilidade (KIBBE, 2000).

O tipo E é solúvel em fluido gástrico (pH inferior a 5,0). As séries L e S formam filmes insolúveis em meio ácido estomacal, atuando como revestimentos gastro-resistentes para comprimidos. De acordo com a composição química, o Eudragit® L 100 é solúvel em pH superior a 6,0, enquanto que o Eudragit® S 100 apresenta solubilidade em valores de pH superiores a 7,0, condições em que formam sais com substâncias alcalinas. Esses polímeros (Figura 03) são obtidos da copolimerização por adição do ácido metacrílico e do metacrilato de metila, sendo que a proporção molar de grupos carboxila livre em relação ao grupamento éster é de aproximadamente 1:1 no Eudragit® L 100 e 1:2 no Eudragit® S 100 (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005; ESPOSITO *et al.*, 2002; MORISHITA *et al.*, 1993; WEISS *et al.*, 1993).

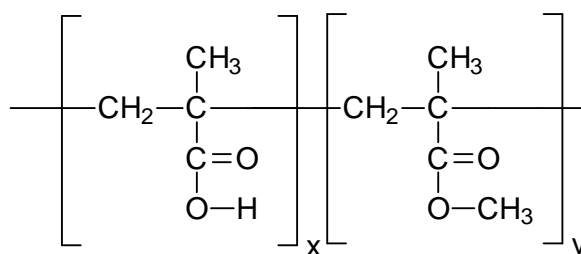


Figura 03 – Estrutura química do poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila)

Os materiais pertencentes às séries Eudragit® RL, Eudragit® RS e o denominado Eudragit® NE 30 D formam filmes insolúveis em água, sendo indicados para a liberação sustentada de fármacos. Os tipos Eudragit® RL e Eudragit® RS são copolímeros contendo unidades de metacrilato de amônio, diferenciados entre si pela proporção do grupo funcional amônio quaternário (10 mol% em RL e 5 mol% em RS). Os grupos amônio, presentes na forma de sais, conferem a característica de permeabilidade a esses polímeros. Dessa forma, o material é insolúvel, porém permeável à água, permitindo que a liberação da substância ativa seja pH independente (HAZNEDAR & DORTUNÇ, 2004; WU *et al.*, 2003). Alternativamente, existem ainda o Eudragit® RL 30 D e o Eudragit® RS 30 D, os quais são dispersões aquosas contendo 30 % em massa de cada polímero (KIBBE, 2000).

A hidroxipropilmetilcelulose (Figura 04), também conhecida por HPMC (comercialmente, Methocel®), é um derivado da celulose que apresenta substituições

O-metila e O-(2-hidroxipropila), constituindo polímeros com diferentes graus de substituição (BURDOCK, 2007; KIBBE, 2000). A marca comercial Methocel[®] corresponde à linha de éteres de celulose fabricados pela Dow Chemical Company. Essa marca vem, normalmente, acompanhada de uma letra que representa o tipo de éter de celulose. A letra A identifica a metilcelulose, enquanto as letras E, F, J e K correspondem aos diferentes tipos de HPMC. O número apresentado na sequência identifica a viscosidade do material polimérico (em cP), medida na concentração de 2 % em água, a 20 °C. Para designar a viscosidade, a letra C é freqüentemente utilizada para representar 100 cP e a letra M para indicar 1000 cP (SANGALLI *et al.*, 2004; MERCK, 2001).

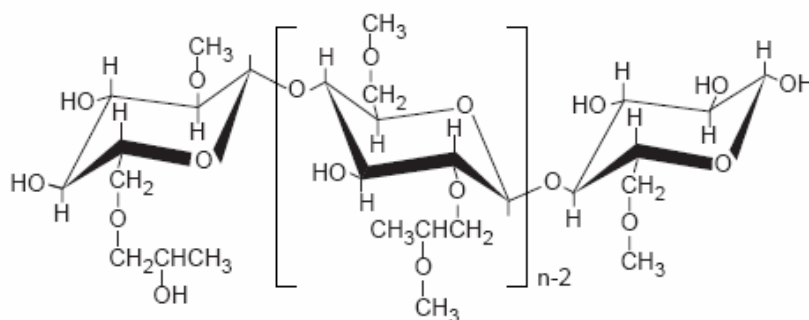


Figura 04 – Estrutura química da hidroxipropilmetilcelulose

A hidroxipropilmetilcelulose, em certos graus de substituição, é solúvel em soluções acetônicas aquosas, em misturas de diclorometano e 2-propanol, dentre outros solventes orgânicos. Normalmente, esses diferentes derivados da celulose são solúveis em água fria, formando uma solução coloidal viscosa (CHEN & HUANG, 2008). São praticamente insolúveis em clorofórmio, etanol (95 °GL) e éter, mas solúveis em misturas de etanol ou metanol e diclorometano. Soluções preparadas com solventes orgânicos tendem a ser mais viscosas, sendo que o aumento da temperatura ocasiona uma redução dessa propriedade (KIBBE, 2000).

Os polímeros na forma de pó são estáveis, embora higroscópicos após secagem. As soluções são estáveis em ampla faixa de pH (3,0 a 11,0), não formam complexos com metais (SALSA, VEIGA & PINA, 1997) devido ao caráter não-iônico, mas são incompatíveis com alguns agentes oxidantes (KIBBE, 2000).

Esses polímeros são amplamente utilizados em formulações farmacêuticas orais, como aglutinantes, agentes de revestimento e formadores de matrizes de

liberação prolongada em comprimidos, pois não apresentam toxicidade (BURDOCK, 2007). Também podem ser usados como emulsionantes, agentes suspensores e formadores de gel (KIBBE, 2000). A utilização da HPMC no desenvolvimento de formas farmacêuticas de liberação prolongada é relatada em diversos trabalhos, por ser um polímero com características de intumescimento, que controla a liberação de fármacos, por meio de mecanismos de difusão e erosão. Esses polímeros têm sido empregados tanto na fabricação de comprimidos matriciais por compressão direta, quanto na obtenção de dispersões sólidas de micropartículas (CHIRICO *et al.*, 2007; HARDY *et al.*, 2007; UGURLU *et al.*, 2007; PETROVIC *et al.*, 2006; HARDY, COOK & MELIA, 2006; CAO *et al.*, 2005).

O processo de liberação da molécula biologicamente ativa a partir das matrizes de HPMC envolve a penetração de água no sistema, hidratação e intumescimento do polímero, difusão do fármaco dissolvido através da matriz e erosão da camada de gel. Trata-se de um processo bastante complexo, sendo a liberação do fármaco afetada pela interação entre água, polímero e fármaco (CHIRICO *et al.*, 2007; MIRANDA, MILLÁN & CARABALLO, 2006; KOESTER *et al.*, 2004; RINAKI, VALSAMI & MACHERAS, 2003; SIEPMANN & PEPPAS, 2001; COLOMBO *et al.*, 2000; WAN, HENG & WONG, 1993).

O poli(álcool vinílico) (PVAI) (Figura 05) é o polímero sintético solúvel em água produzido em maior quantidade no mundo. Foi obtido pela primeira vez em 1924, por Herrman e Haehnel, pela hidrólise do poli(acetato de vinila), que é a forma de obtenção comercial utilizada até o presente (GUERRINI *et al.*, 2006; MARTEN, 1985).

O poli(álcool vinílico) tem sido utilizado em um grande número de aplicações farmacêuticas, particularmente como polímero com características adesivas, como emulsionante e como agente suspensor (KIBBE, 2000). Mais recentemente, o PVAI tem sido avaliado na elaboração de hidrogéis (BOROVAC *et al.*, 2006; DINI *et al.*, 2005; NHO *et al.*, 2005; MORETTO *et al.*, 2004; HUANG, CHESTANG & BRAZEL, 2002; FREICHEL & LIPPOLD, 2000; MANDAL, 2000), de filmes (WESTEDT *et al.*, 2006; HASSAN, STEWART & PEPPAS, 2000) e de micropartículas (KURKURI & AMINABHAVI, 2004; PISTEL *et al.*, 2001; BACHTSI & KIPARISSIDES, 1996; FICEK & PEPPAS, 1993) que permitem modular a liberação de fármacos, revelando propriedades biologicamente interessantes de biodegradação e de baixa toxicidade.

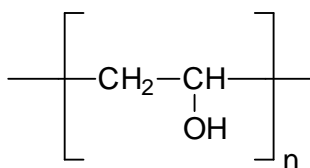


Figura 05 – Estrutura química do poli(álcool vinílico)

O grande número de aplicações do PVAI levou a uma variedade de produtos comerciais, sendo que as propriedades básicas desse polímero, solubilidade em água e biodegradação, dependem do grau de polimerização e do grau de hidrólise. Quanto ao grau de hidrólise, esses produtos são classificados em parcialmente hidrolisados e completamente hidrolisados (ALEXY *et al.*, 2004; ARANHA & LUCAS, 2001; FINCH, 1992).

O processo de solubilização do PVAI (100 % hidrolisado) em água requer temperaturas elevadas, devido à alta energia relacionada à dissolução da fase cristalina. Após a dissolução, o PVAI se mantém em solução aquosa mesmo em temperatura ambiente. Além disso, o efeito da temperatura na solubilidade está associado ao rompimento das interações de hidrogênio intra- e intermoleculares. Com o aumento da temperatura, as ligações de hidrogênio são quebradas diminuindo essas forças e, com isso, a solubilidade aumenta. Por outro lado, o aumento da temperatura pode reduzir também as ligações de hidrogênio com a água, prejudicando a solubilidade. Para o PVAI 98 % hidrolisado, a solubilidade aumenta com a diminuição do grau de polimerização. Para o PVAI parcialmente hidrolisado (88 %), a solubilidade é relativamente independente do grau de polimerização. E para o PVAI 80 % hidrolisado, a solubilidade a baixa temperatura é muito maior que para o material 88 % hidrolisado, mas decresce rapidamente a partir de 30 °C (ARANHA & LUCAS, 2001; FINCH, 1992).

Considerando ainda os diversos materiais disponíveis para a encapsulação de fármacos, podem ser destacadas as ciclodextrinas, as quais são oligossacarídeos cíclicos naturais, formados por unidades de D-glucopiranosose (Figura 06 a), unidas por ligações glicosídicas $\alpha(1,4)$. As ciclodextrinas mais importantes são formadas por seis (α -ciclodextrina), sete (β -ciclodextrina) (Figura 06 b) ou oito (γ -ciclodextrina) unidades de D-glucose. As moléculas de ciclodextrina estruturalmente possuem a forma de cones truncados (Figura 06 c), sendo que as hidroxilas secundárias em C-2

e C-3 constituem a face mais larga e as hidroxilas primárias em C-6 formam a face mais estreita. A região interna do cone exibe um caráter hidrofóbico, devido ao alinhamento dos hidrogênios em C-3 e C-5 e à presença dos grupos éteres dirigidos ao interior (LOFTSSON & DUCHÊNE, 2007; CHALLA *et al.*, 2005; GOULD & SCOTT, 2005; MARTIN DEL VALLE, 2004; SZEJTLI, 1998). As ligações de hidrogênio entre as hidroxilas C-2 de uma D-glucose com aquelas em C-3 da unidade vizinha restringem a liberdade conformacional do anel e contribui para a rigidez estrutural (DAVIS & BREWSTER, 2004). A β -CD é a menos solúvel em água (1,85 %), devido à rigidez causada por um cinturão de ligações de hidrogênio que envolve todo o macrociclo (MARTIN DEL VALLE, 2004; QUINÕNES, 2001).

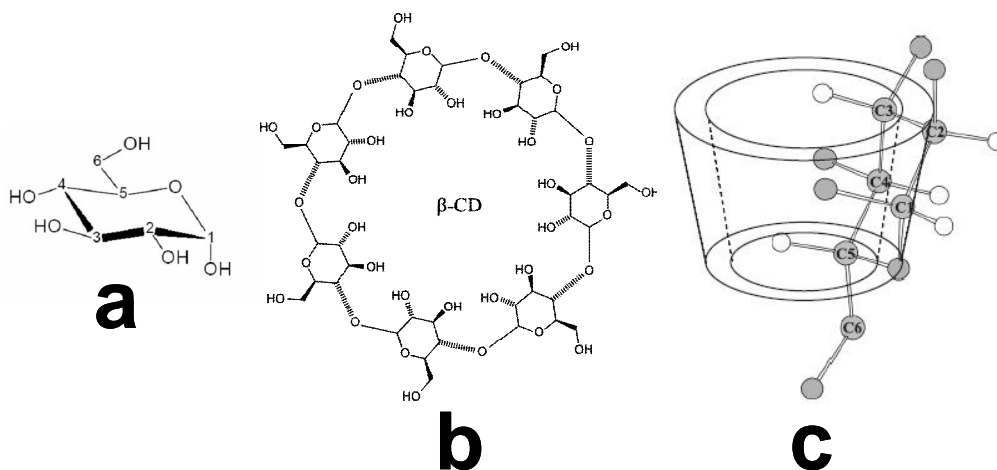


Figura 06 – Estrutura química da α -D-glucopirranose na conformação cadeira com as posições indicadas (a), estrutura química da β -ciclodextrina (b) e representação esquemática da estrutura tridimensional das ciclodextrinas (c)

Em função da sua biocompatibilidade e de suas características multifuncionais, as ciclodextrinas são empregadas como complexos de inclusão para fármacos, normalmente por melhorar a solubilidade ou permitir a liberação modificada (LOFTSSON & DUCHÊNE, 2007; CHALLA *et al.*, 2005; GOULD & SCOTT, 2005; MARTIN DEL VALLE, 2004; SINGH, SHARMA & BANERJEE, 2002; HIRAYAMA & UEKAMA, 1999). Na complexação, vários fenômenos estão envolvidos, como a substituição de um estado energeticamente desfavorável para um estado mais estável, causado pela saída de água e entrada da substância ativa, a formação de interações de Van der Waals entre a ciclodextrina e a substância ativa, além de interações dipolo-dipolo induzidas e forças de London e a formação

de ligações de hidrogênio entre a ciclodextrina e molécula-hóspede (BIBBY, DAVIES & TUCKER, 2000; STELLA *et al.*, 1999; FATHALLAH, FOTIADU & JAIME, 1994). Para ser complexado, o fármaco precisa apresentar alguns requisitos, como a compatibilidade geométrica e um certo grau de hidrofobicidade (CHALLA *et al.*, 2005; SKIBA *et al.*, 2005).

Outros materiais de natureza protéica (LU, ZHANG & YANG, 2003) e polissacarídica, entre os quais, a quitosana (AGNIHOTRI, MALLIKARJUNA & AMINABHAVI, 2004; KATO, ONISHI & MACHIDA, 2003) e a gelatina (YOUNG *et al.*, 2005), além de lipídeos (MASCHKE *et al.*, 2007; REITHMEIER, HERRMANN & GÖPFERICH, 2001), também têm sido avaliados na liberação controlada de agentes biologicamente ativos, embora com menor frequência.

1.2 ASPECTOS BIOFARMACÊUTICOS DO CLORIDRATO DE METFORMINA

O cloridrato de metformina (MetHCl) é um agente hipoglicemiante oral, quimicamente conhecido como monoclórato de 1,1-dimetilbiguanida (Figura 07) (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005). O MetHCl é amplamente empregado na atualidade como o fármaco de escolha no tratamento do *Diabetes mellitus* (DM) tipo 2 (LAI & FENG, 2006), além de ser recomendado ao tratamento da síndrome do ovário policístico (HOMBURG, 2008).

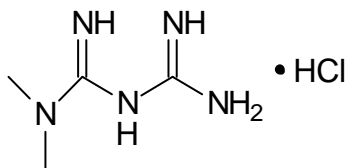


Figura 07 – Estrutura química do cloridrato de metformina

Clinicamente, a escolha do MetHCl é fundamentada no fato do mesmo não conduzir a um ganho de massa corporal e de terem sido comprovadas suas propriedades redutoras de lipídeos (LEE & ARONNE, 2007; ADIKWU, YOSHIKAWA & TAKADA, 2004; GARCÍA, MOYA & DOMINGO, 2003; PARHOFER *et al.*, 2002).

A terapia corrente com o MetHCl entretanto, não está totalmente otimizada, por ser associada a uma alta incidência de efeitos colaterais gastrintestinais,

verificados em aproximadamente 30 % dos pacientes (INZUCCHI, 2002; BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY, 1999). Dentre eles, observam-se náusea, diarreia, dor abdominal, alteração do paladar e anorexia. A acidose láctica, efeito colateral mais grave das biguanidas, é rara com o uso do MetHCl (ORBAN *et al.*, 2006; YOUNG, PIRES & LIMA, 2001).

Além disso, o fármaco é comumente administrado em altas doses sob a forma de comprimidos orais, duas a três vezes ao dia, para produzir um tratamento efetivo na redução da glucose sanguínea (STEPENSKY *et al.*, 2001).

Quanto ao aspecto farmacotécnico, o cloridrato de metformina apresenta desafios de formulação, em função da sua difícil compressibilidade, por se tratar de um sólido cristalino, da sua alta concentração na forma farmacêutica e da sua elevada solubilidade em água (COLORCON, 2005; BRETNALL & CLARKE, 1998).

Do ponto de vista farmacocinético, a metformina (na forma de cloridrato) é um fármaco com uma biodisponibilidade oral de 50-60 % e uma meia-vida relativamente curta, de 1,5-4,5 h (ALI *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2004). O MetHCl pertence a classe biofarmacêutica III, com alta solubilidade em água e baixa permeabilidade pelas membranas biológicas (CHENG *et al.*, 2004). Assim, o desenvolvimento de sistemas que possibilitem a liberação prolongada do MetHCl no trato gastrointestinal superior, com retenção no estômago e no intestino delgado, podem conduzir a uma melhor resposta biológica (PATEL, RAY, THAKUR, 2006; HOFFMAN *et al.*, 2004; STEPENSKY *et al.*, 2001).

No contexto da liberação modificada, embora tenham sido desenvolvidas vastas pesquisas, poucas investigações têm sido realizadas na área de formulações para liberação de fármacos hipoglicemiantes orais (US PATENT 6866866, 2005), entre os quais, o MetHCl.

PINHO & STORPIRTIS (1999) fabricaram comprimidos destinados à liberação controlada do MetHCl, utilizando poli(vinilpirrolidona) (PVP), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), ácido esteárico, estearato de magnésio, sílica coloidal (Aerosil®), manitol e gelatina. As preparações foram avaliadas por ensaios de dissolução *in vitro*. As formulações contendo cerca de 10 % (m/m) de HPMC foram efetivas na formação de uma barreira geleificante, responsável por controlar a liberação do fármaco, por difusão, durante um período de 6 h.

FUNDUEANU *et al.* (2001) desenvolveram micropartículas acrílicas para a liberação controlada da buformina, fármaco análogo ao MetHCl. O método

selecionado para a preparação das micropartículas foi a copolimerização radicalar por suspensão dos monômeros ácido metacrílico e metacrilato de metila, na presença de dimetacrilato de etilenoglicol, como agente de reticulação. O tosilato de buformina foi incluído na rede polimérica de micropartículas, durante o processo de polimerização. Foi observado que, em função da solubilidade do ativo ser elevada em água e baixa em fase orgânica, a incorporação do fármaco não excedeu 15 % (m/m). Entretanto, os autores verificaram que a quantidade de buformina encapsulada, bem como a liberação do fármaco a partir das micropartículas, foram dependentes da relação ácido metacrílico/metacrilato de metila, do grau de ligações cruzadas e da relação solvente/comonômeros.

MULHBACHER *et al.* (2001) trabalharam com três derivados sintéticos obtidos a partir do amido com ligações cruzadas e alto teor de amilose, pela substituição de grupos hidroxila por carboximetila, aminoetila e acetato, na liberação controlada de paracetamol, ácido acetilsalicílico e MetHCl, em comprimidos. Para o MetHCl, foi observado que o excipiente substituído com grupamentos carboximetila permitiu tempos de liberação mais prolongados. A interação entre os grupos carboxílicos da matriz e os grupos amina da metformina pode explicar esse comportamento e a modulação da liberação por parte desse excipiente.

STEPENSKY *et al.* (2001) promoveram a avaliação pré-clínica, utilizando parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos, de comprimidos gastro-retentivos de liberação controlada contendo o MetHCl. Os comprimidos foram preparados por compressão direta do fármaco, na presença de 25 % (m/m) de hidroxipropilmetilcelulose (Methocel® K100M). Um segundo grupo de comprimidos foi elaborado com a mesma composição, mas revestidos com um filme de etilcelulose. A totalidade do fármaco, contido nas formulações de liberação controlada, foi disponibilizada em até 3 h para a primeira formulação e, em até 6 h, para a formulação revestida. A partir da comparação dos parâmetros farmacocinéticos, a segunda formulação foi considerada apropriada à liberação modificada. Além disso, ambas as formas reduziram a incidência de efeitos adversos gastrintestinais, por resultar em uma liberação gradual do fármaco no trato gastrintestinal superior.

DI COLO, FALCHI & ZAMBITO (2002) desenvolveram a avaliação *in vitro* de sistemas de liberação pH-controlados para o MetHCl. Os comprimidos foram formulados a partir de matrizes com diferentes composições entre poli(óxido de

etileno) (PEO) e poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila) (Eudragit®). Foram utilizados PEO 400, PEO 4000, Eudragit® L 100 e Eudragit® S 100. As matrizes mostraram uma liberação gradual do cloridrato de metformina a partir do estômago até o jejuno, não afetada por flutuações do pH gástrico. Concluiu-se que esse modo de administração pode permitir o uso de doses terapêuticas mais baixas do fármaco e remissão dos efeitos colaterais.

ADIKWU, YOSHIKAWA & TAKADA (2004) estudaram a propriedade antidiabética de uma formulação contendo MetHCl e goma detário, obtida a partir da espécie *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. Esse polissacarídeo é constituído principalmente por unidades D-galactose, além da presença de unidades D-manose e D-glucose. Os resultados indicaram que o carboidrato foi um excipiente adequado para a formulação do sistema de liberação mucoadesivo de metformina, quando comparado ao excipiente carboximetilcelulose sódica. Além disso, a goma detário, avaliada isoladamente, também mostrou um efeito antidiabético promissor, uma vez que a glucose permaneceu aprisionada na rede do gel e teve a sua absorção reduzida.

KAR & CHOUDHURY (2005) elaboraram micropartículas de quitosana para retardar a liberação do MetHCl. As micropartículas, variando entre 200 e 250 µm, apresentaram uma eficiência de encapsulação entre 70 e 85 % (m/m). A liberação do fármaco foi mantida por mais de 8 h, segundo uma cinética explicada pelo modelo de liberação de Higuchi, indicando a existência de um processo controlado por difusão.

HU, LIU, TANG & ZHANG (2006) obtiveram péletes para a liberação sustentada do MetHCl. O estudo de modificação da superfície das partículas, empregando talco, e o efeito de alguns polímeros (met)acrílicos da série Eudragit®, no revestimento dos péletes, foram avaliados por ensaios *in vitro* e *in vivo*. Os resultados experimentais indicaram que a modificação da superfície com talco promoveu uma contribuição decisiva no controle da liberação do fármaco. Os sistemas de revestimento com a blenda de Eudragit® L 30 D - 55 e Eudragit® NE 30 D (1:20) permitiram uma liberação sustentada do ativo, com adequada biodisponibilidade.

PATEL, RAY, THAKUR (2006) formularam micropartículas de MetHCl baseadas em etilcelulose. As micropartículas foram obtidas pelo método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico. Os dados revelaram

distribuição de tamanho de 250 a 1000 μm , eficiência de encapsulação variando desde 61 a 134 % (m/m) e taxa de liberação do fármaco a partir das micropartículas entre 47 e 87 %, após 8 h de avaliação. Os autores afirmaram que o desenvolvimento de sistemas microparticulados, contendo o MetHCl, constituem estratégias clínicas viáveis para prolongar a liberação do fármaco no estômago, resultando em um aumento da biodisponibilidade e ampliando a adesão do paciente ao tratamento.

ALI *et al.* (2007) desenvolveram cápsulas para a liberação modificada do MetHCl. Várias misturas físicas entre polímeros e MetHCl foram elaboradas. As cápsulas preparadas com hidroxipropilmetilcelulose (HPMC K4M) e com etilcelulose apresentaram os melhores resultados de liberação no estudo *in vitro*.

KAR & CHOUDHURY (2007) formularam micropartículas de etilcelulose, contendo o MetHCl, pelo método de emulsão múltipla e evaporação do solvente. Os autores empregaram acetronitrila:cloreto de metileno (1:1) e parafina líquida, como fase orgânica primária e fase orgânica secundária, respectivamente. O monooleato de sorbitano (Span[®] 80) foi usado como tensoativo emulsionante. A eficiência de encapsulação variou de 55 a 85 % (m/m). A avaliação *in vitro* revelou um período de liberação do ativo superior a 12 h, segundo o modelo cinético de Higuchi. Em ratos, a administração oral das micropartículas promoveu a redução plasmática da glucose por um período superior a 10 h.

Dessa forma, considerando a importância do tratamento farmacológico no DM tipo 2, notadamente pelo uso do MetHCl na prevenção das complicações micro e macrovasculares da patologia e, levando-se em conta que as estratégias de liberação modificada podem, nesse caso, reduzir os efeitos gastrintestinais colaterais e prolongar o efeito terapêutico, surge a perspectiva do desenvolvimento de sistemas microparticulados com aplicação potencial para essa finalidade.

Ainda assim, em contraposição ao valor clínico que o MetHCl apresenta, apenas um pequeno número de trabalhos, descritos sinteticamente acima, aborda a liberação controlada desse ativo, a partir de diferentes formas farmacêuticas sólidas. Com base nessas considerações, justifica-se o mérito do presente estudo, que tem seu valor científico alicerçado no uso de diversos materiais poliméricos e de diferentes métodos de obtenção de micropartículas contendo o MetHCl, analisando,

entre outros aspectos, a eficiência de encapsulação e o perfil de liberação *in vitro* do fármaco.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Promover a obtenção, a caracterização e a avaliação *in vitro* de sistemas poliméricos microparticulados para a liberação modificada do cloridrato de metformina (MetHCl).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Desenvolver micropartículas poliméricas contendo MetHCl, formuladas pelo método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico, a partir do poliéster biodegradável poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV);

Elaborar micropartículas poliméricas contendo MetHCl, empregando o método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico ou o processo de secagem por aspersão, a partir de polímeros (met)acrílicos e/ou derivado da celulose;

Obter micropartículas poliméricas contendo MetHCl, desenvolvidas pelo método de secagem por aspersão, a partir do sistema reticulado constituído por poli(álcool vinílico), β -ciclodextrina e glutaraldeído;

Proceder a determinação quantitativa do MetHCl incorporado nas micropartículas poliméricas, pelo método de espectroscopia na região do ultravioleta, previamente validado, avaliando a eficiência de encapsulação do fármaco;

Promover a caracterização dos sistemas poliméricos, por meio de análises espectroscópicas, morfológicas e térmicas dos materiais;

Realizar a avaliação *in vitro* dos diferentes sistemas carreadores do MetHCl, em condições miméticas ao trato gastrointestinal, visando avaliar o desempenho das micropartículas poliméricas na liberação do fármaco.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 EQUIPAMENTOS

- Agitador mecânico (FISATOM, modelo 713, São Paulo, Brasil);
- Agitador tipo vórtex para tubos (PHOENIX, modelo AP 56, Araraquara, Brasil);
- Analisador de umidade semi-automático por Karl Fischer (QUIMIS, modelo Q349-2, Diadema, Brasil);
- Balança analítica de prato único (METTLER, modelo H 5, Zürich, Suíça);
- Balança termogravimétrica (NETZSCH, modelo TG 209 F1 Iris[®], Burlington, Estados Unidos);
- Banho de ultra-som (THORNTON-INPEC, modelo T 14, Vinhedo, Brasil);
- Centrífuga para tubos (JOUAN, modelo BR 4i, Château-Gontier, França);
- Difrátômetro de raio-X (SHIMADZU, modelo XRD-6000, Kyoto, Japão);
- Dispersador de alta velocidade (Ultra-Turrax[®] dispersor, IKA, modelo IKA T18N, Staufen, Alemanha);
- Espectrofotômetro na região do ultravioleta-visível (HEWLETT-PACKARD, modelo HP 8452-A diode array, Boeblingen, Alemanha);
- Espectrômetro de difração a laser (CILAS, modelo Cilas 920 L, Marseille, França);
- Espectrômetro infravermelho com transformada de Fourier (BIO-RAD, modelo Excalibur series FTS 3500GX, Cambridge, Estados Unidos);
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (VARIAN, modelo Mercury Plus BB, Palo Alto, Estados Unidos);
- Estufa a vácuo (TECNAL, modelo TE 395, Piracicaba, Brasil);
- Microscópio eletrônico de varredura (JEOL, modelo JSM 6360 LV, Tokyo, Japão);
- Metalizador (BALZERS SPUTTERING, modelo SCD-030, Bingen, Alemanha);
- Placa de agitação e aquecimento (CORNING, modelo PC-320, Acton, Estados Unidos);
- Potenciômetro digital de bancada (QUIMIS, modelo Q400A, Diadema, Brasil);
- Sistema de calorimetria exploratória diferencial (NETZSCH, modelo DSC 204 F1 Phoenix[®], Burlington, Estados Unidos);

- Sistema para dissolução *in vitro* (banho termostatizado IKA, modelo IKA EH4, Staufen, Alemanha; bomba peristáltica GILSON, modelo Minipuls 3, Villiers Le Bel, França e células de vidro);
- Torre para secagem por aspersão (Spray Dryer LABMAQ, modelo MSD 1.0, Ribeirão Preto, Brasil).

3.2 REAGENTES E SOLVENTES

3.2.1 Fármaco

- Cloridrato de metformina (MethHCl) (99,8 % de pureza, DELAWARE, Porto Alegre, Brasil).

3.2.2 Polímeros

- Cloreto de poli(metacrilato de trimetilamonoetila-co-metacrilato de metila-co-acrilato de etila) (Eud RS100) ($\overline{M}_w = 150.000 \text{ g.mol}^{-1}$, Eudragit[®] RS 100, RÖHM, Darmstadt, Alemanha);
- Dispersão aquosa de cloreto de poli(metacrilato de trimetilamonoetila-co-metacrilato de metila-co-acrilato de etila) 30 % (m/m), contendo 0,25 % (m/m) de ácido sórbico e 0,1 % (m/m) de hidróxido de sódio (Eud RS30D) ($\overline{M}_w = 150.000 \text{ g.mol}^{-1}$, Eudragit[®] RS 30 D, RÖHM, Darmstadt, Alemanha);
- Hidroxipropilmetilcelulose (Meth F4M) ($\overline{M}_w = 90.000 \text{ g.mol}^{-1}$, 28,5 mol% de metoxila, 6,0 mol% de hidroxipropila, Methocel[®] F4M, DOW CHEMICAL, Midland, Estados Unidos);
- Poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila) (Eud S100) ($\overline{M}_w = 135.000 \text{ g.mol}^{-1}$, 33,3 mol% de grupos carboxila, 66,6 mol% de grupamentos éster, Eudragit[®] S 100, RÖHM, Darmstadt, Alemanha);
- Poli(álcool vinílico) (PVAI) ($\overline{M}_w = 72.000 \text{ g.mol}^{-1}$, 88,5 mol% de hidrólise, VETEC, Rio de Janeiro, Brasil);
- Poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV) ($\overline{M}_w = 379.160 \text{ g.mol}^{-1}$, 8,70 mol% de hidroxivalerato, Biocycle[®] L 110, PHB INDUSTRIAL, Serrana, Brasil).

O fármaco antidiabético oral e os polímeros foram empregados sem qualquer tratamento prévio.

3.2.3 Água purificada

Para o desenvolvimento do sistema S1, foi utilizada água purificada pelo processo de destilação, em equipamento tipo Pilsen (QUIMIS, modelo Q341, Diadema, Brasil). Para a elaboração dos sistemas S2, S3 e S4, foi empregada água ultra-pura, obtida por meio do Milli-Q[®] Ultrapure Water Purification System (MILLIPORE, Bedford, Estados Unidos).

3.2.4 Outros reagentes e solventes

- Acetona P.A. (MeCOMe) (VETEC, Rio de Janeiro, Brasil);
- Ácido clorídrico 37 % P.A. (HCl) (solução aquosa, 1,19 g.mL⁻¹, SYNTH, Diadema, Brasil);
- Álcool etílico P.A. (EtOH) (99,8 % de pureza, SYNTH, Diadema, Brasil);
- Álcool metílico P.A. (MeOH) (VETEC, Rio de Janeiro, Brasil);
- β -ciclodextrina (β -CD) (Kleptose[®], ROQUETTE, Lestrem, França);
- Brometo de potássio grau espectroscópico (KBr) (ALDRICH Co., St. Louis, Estados Unidos);
- Cloreto de sódio P.A. (NaCl) (BIOTEC ANADIOL, São José dos Pinhais, Brasil);
- Clorofórmio P.A. (HCCl₃) (SYNTH, Diadema, Brasil);
- Fosfato de potássio dibásico anidro P.A. (K₂HPO₄) (SYNTH, Diadema, Brasil);
- Fosfato de potássio monobásico anidro P.A. (KH₂PO₄) (SYNTH, Diadema, Brasil);
- Glutaraldeído 25 % (GAl) (solução aquosa, 1,06 g.mL⁻¹, grau I, SIGMA CHEMICAL Co., St. Louis, Estados Unidos);
- Hidróxido de sódio P.A. (NaOH) (BIOTEC ANADIOL, São José dos Pinhais, Brasil);
- Monooleato de sorbitano (Span[®] 80, DELAWARE, Porto Alegre, Brasil);
- Monoletato de sorbitano etoxilado (polissorbato 80, Tween[®] 80, DELAWARE, Porto Alegre, Brasil);
- Vaselina líquida (óleo mineral grau USP, FarmanilQuima, Curitiba, Brasil).

Os solventes orgânicos foram devidamente purificados, de acordo com os procedimentos preconizados pela literatura (MANO & DIAS, 2005; PERRIN & ARMAREGO, 1988).

3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.3.1 Obtenção das micropartículas poliméricas

3.3.1.1 Sistema S1: micropartículas contendo cloridrato de metformina, formuladas pelo método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico, a partir do poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)

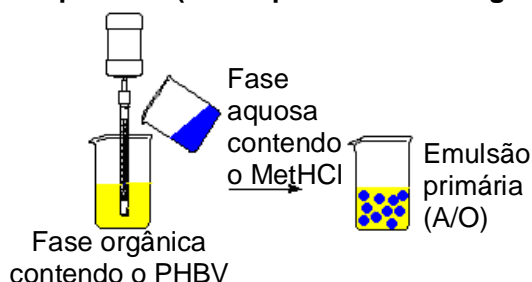
A formação das micropartículas no sistema designado como S1, ocorreu, inicialmente, a partir das condições estabelecidas na Tabela 03, empregando diferentes proporções, em massa, do fármaco cloridrato de metformina (MetHCl) e do polímero poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV). Nesse caso, foi utilizado, para a microencapsulação, o método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico, técnica amplamente difundida na literatura e possível de ser empregada aos compostos químicos de natureza hidrofílica (VIRTO *et al.*, 2007; CHOIGNOT *et al.*, 2006; FREITAS, MERKLE & GANDER, 2005; MAIA, SANTANA & RÉ, 2004; PELTONEN *et al.*, 2004; ROSCA, WATARI & UO, 2004; LIMA, SILVA & RODRIGUES JÚNIOR, 2000; COUVREUR *et al.*, 1997; ALEX & BODMEIER, 1990).

Tabela 03 – Composição das formulações de micropartículas poliméricas contendo MetHCl a partir do PHBV (formulações S1M1 a S1M4)

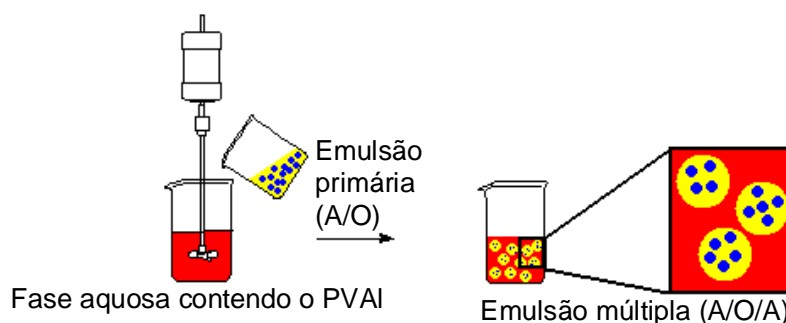
Composição	Formulação			
	S1M1	S1M2	S1M3	S1M4
Fase aquosa interna				
MetHCl	2,00 g	1,00 g	0,20 g	—
H ₂ O destilada (pH = 6,6)	6,00 mL	6,00 mL	6,00 mL	6,00 mL
Tween [®] 80	0,25 g	0,25 g	0,25 g	0,25 g
Fase orgânica				
PHBV	2,00 g	2,00 g	2,00 g	2,00 g
HCCl ₃	40,0 mL	40,0 mL	40,0 mL	40,0 mL
Fase aquosa externa				
PVAI	4,00 g	4,00 g	4,00 g	4,00 g
H ₂ O destilada (pH = 6,6)	200,0 mL	200,0 mL	200,0 mL	200,0 mL

A fase aquosa interna foi emulsionada na fase orgânica, ambas a 40 ± 2 °C, utilizando dispersador de alta rotação ($18.000\text{ rev.min}^{-1}$, 2 min), com a formação da emulsão primária (A/O). Em seguida, a emulsão primária foi adicionada na fase aquosa externa, estabilizada a 40 ± 2 °C, sob agitação mecânica (5000 rev.min^{-1} , 5 min). A emulsão múltipla formada (A/O/A) foi mantida sob agitação mecânica (800 rev.min^{-1}), a 30 ± 2 °C, durante 4 h. Uma representação esquemática é mostrada na Figura 08.

A) Formação da emulsão primária (fase aquosa em fase orgânica, A/O)



B) Formação da emulsão múltipla (A/O/A)



C) Evaporação do solvente orgânico

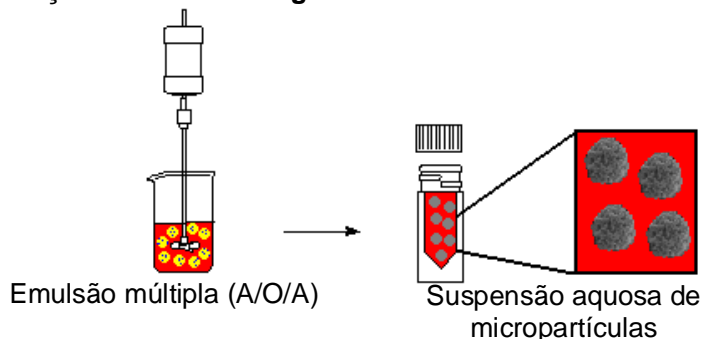


Figura 08 – Esquema de formação de micropartículas poliméricas contendo MetHCl pelo método de emulsão múltipla e evaporação do solvente (sistema S1)

Transcorrido o tempo para a evaporação do solvente orgânico, as micropartículas foram separadas por centrifugação (5000 rev.min^{-1} , 10 min) e

lavadas, por 2 vezes, com solução aquosa alcalina (pH 12,0). Finalmente, os produtos foram secos em estufa a vácuo a 50 ± 2 °C por 4 h. As micropartículas foram armazenadas na temperatura ambiente, sob vácuo. Todas as formulações foram desenvolvidas em triplicata, sendo que as micropartículas S1M4 foram obtidas como formulação controle.

Com o propósito de estabelecer o efeito sobre a incorporação do fármaco nos diferentes sistemas poliméricos, foram propostas as formulações de S1M5 a S1M9 (Tabela 04). A influência da presença de acetona (25 %, V/V) foi avaliada na fase orgânica. Na fase aquosa externa, foi promovida a elevação do pH para um valor de 12,0, com solução aquosa de NaOH 1 mol.L^{-1} . A substituição de 50 % (V/V) da água destilada por álcool etílico e ainda, a adição de 20 % (m/V) de cloreto de sódio nesse meio, também foram estudadas.

Tabela 04 – Composição das formulações de micropartículas poliméricas contendo MetHCl a partir do PHBV (formulações S1M5 a S1M9)

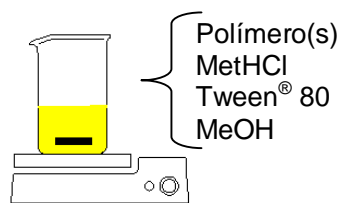
Composição	Formulação				
	S1M5	S1M6	S1M7	S1M8	S1M9
Fase aquosa interna					
MetHCl	0,20 g	0,20 g	0,20 g	0,20 g	0,20 g
H ₂ O destilada (pH = 6,6)	6,00 mL	6,00 mL	6,00 mL	6,00 mL	6,00 mL
Fase orgânica					
PHBV	2,00 g	2,00 g	2,00 g	2,00 g	2,00 g
HCCl ₃	30,0 mL	40,0 mL	40,0 mL	40,0 mL	40,0 mL
MeCOMe	10,0 mL	—	—	—	—
Tween [®] 80	0,25 g	0,25 g	0,25 g	0,25 g	0,25 g
Fase aquosa externa					
PVAI	4,00 g	4,00 g	4,00 g	4,00 g	4,00 g
NaCl	—	40,00 g	—	—	40,00 g
EtOH	—	—	100,0 mL	—	—
H ₂ O destilada (pH = 6,6)	200,0 mL	200,0 mL	100,0 mL	—	—
Solução aquosa alcalina (pH = 12,0)	—	—	—	200,0 mL	200,0 mL

3.3.1.2 Sistema S2: micropartículas contendo cloridrato de metformina, obtidas pelo método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico, a partir de polímeros (met)acrílicos e/ou celulósico

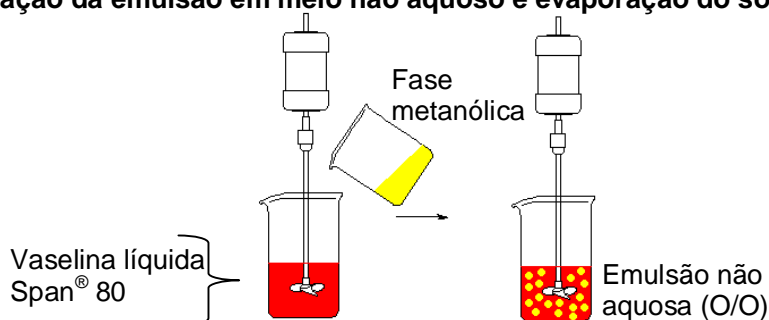
As micropartículas que compõem o sistema S2 foram preparadas pelo método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico (Figura 09), técnica também descrita na literatura como adequada para fármacos

hidrofílicos (PATEL, RAY & THAKUR, 2006; RAFFIN *et al.*, 2006a; MATEOVIĆ-ROJNIK *et al.*, 2005; JALIL & NIXON, 1990a; JALIL & NIXON, 1990b; DEASY, 1984).

A) Obtenção da fase metanólica



B) Formação da emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente



C) Separação das micropartículas

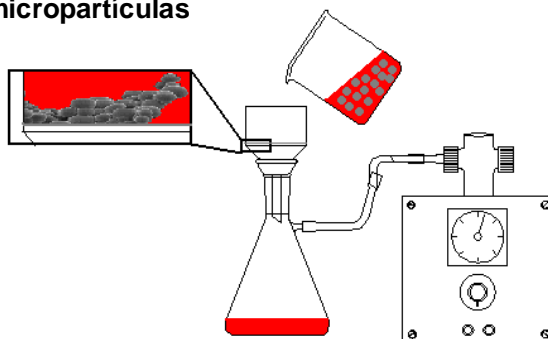


Figura 09 – Esquema de preparação de micropartículas poliméricas contendo MetHCl pelo método de emulsão não aquosa e evaporação do solvente (sistema S2)

Foram elaboradas diferentes formulações, em triplicata, empregando o cloridrato de metformina (MetHCl) e os polímeros poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila) (Eud S100), cloreto de poli(metacrilato de trimetilamonioetila-co-metacrilato de metila-co-acrilato de etila) (Eud RS100) e hidroxipropilmetilcelulose (Meth F4M), nas proporções (em massa) sumarizadas na Tabela 05. O material polimérico foi dissolvido/disperso em metanol por agitação magnética (800 rev.min⁻¹), na temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados o MetHCl e, quando necessário, o monooleato de sorbitano etoxilado (Tween® 80), mantendo-se a agitação magnética até a completa dissolução do fármaco. Após ser

conservada por 12 h a 5 ± 1 °C, a fase metanólica foi vertida sobre a fase de vaselina líquida, mantendo o sistema em agitação mecânica ($1000 \text{ rev.min}^{-1}$), na temperatura ambiente, por mais 6 h. Em seguida, as micropartículas foram filtradas sob vácuo e lavadas com 50,0 mL de ciclo-hexano, por 2 vezes, para a remoção do óleo mineral. Por fim, os produtos foram secos em estufa a vácuo a 50 ± 2 °C por 4 h. As micropartículas foram armazenadas na temperatura ambiente, sob vácuo. Mediante o emprego do mesmo procedimento, foram preparadas micropartículas na ausência do fármaco, designadas de S2M6 a S2M10, representando as formulações controle correspondentes às micropartículas de S2M1 a S2M5 (Tabela 05), respectivamente.

Tabela 05 – Composição das formulações de micropartículas poliméricas contendo MetHCl a partir dos polímeros met(acrílicos) e/ou celulósico (sistema S2)

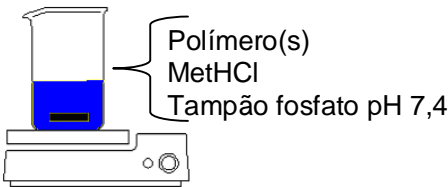
Composição	Formulação				
	S2M1	S2M2	S2M3	S2M4	S2M5
Fase interna					
MetHCl	0,10 g	0,10 g	0,10 g	0,10 g	0,10 g
Poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila) (Eud S100)	0,90 g	0,45 g	—	0,45 g	—
Cloreto de poli(metacrilato de trimetilamonioetila-co-metacrilato de metila-co-acrilato de etila) (Eud RS100)	—	0,45 g	0,90 g	—	—
Hidroxipropilmetilcelulose (Meth F4M)	—	—	—	0,45 g	0,90 g
Monooleato de sorbitano etoxilado (Tween® 80)	—	—	—	0,14 g	0,16 g
MeOH	40,0 mL	40,0 mL	40,0 mL	40,0 mL	40,0 mL
Fase externa					
Monooleato de sorbitano (Span® 80)	0,63 g	0,63 g	0,63 g	0,74 g	0,84 g
Vaselina líquida	200,0 mL	200,0 mL	200,0 mL	200,0 mL	200,0 mL

3.3.1.3 Sistema S3: micropartículas contendo cloridrato de metformina, preparadas pelo método de secagem por aspersão, a partir de polímeros (met)acrílicos e/ou celulósico

A obtenção das micropartículas contendo o MetHCl, que constituem o sistema S3, foi conduzida pelo método de secagem por aspersão ou *spray-drying* (Figura 10), procedimento que se destaca por ser um processo rápido, de baixo custo, que não utiliza solvente orgânico, sendo ainda, passível de transposição de escala (GHOSH, 2006; PEREIRA *et al.*, 2006; RAFFIN *et al.*, 2006b; ONEDA e RÉ, 2003; ESPOSITO *et al.*, 2000; RÉ, 1998; DEASY, 1984).

A partir do cloridrato de metformina (MetHCl) e dos polímeros poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila) (Eud S100), cloreto de poli(metacrilato de trimetilamonioetila-co-metacrilato de metila-co-acrilato de etila) em dispersão aquosa a 30 % (m/m) (Eud RS30D) e hidroxipropilmetilcelulose (Meth F4M), foram desenvolvidas as formulações de micropartículas, nas proporções (em massa) indicadas na Tabela 06.

A) Preparação da fase aquosa



B) Secagem por aspersão e formação das micropartículas

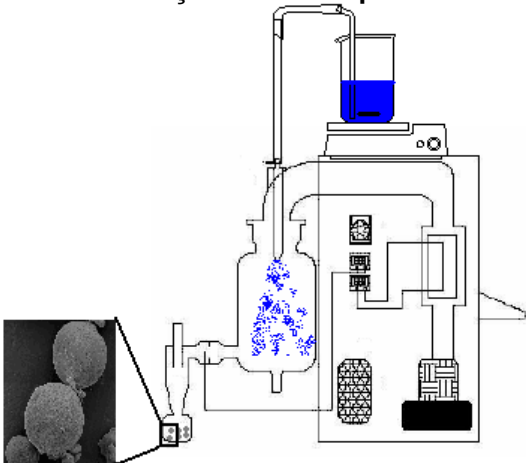


Figura 10 – Esquema de obtenção de micropartículas poliméricas contendo MetHCl pelo método de secagem por aspersão (sistema S3)

Tabela 06 – Composição das formulações de micropartículas poliméricas contendo MetHCl a partir dos polímeros met(acrílicos) e/ou celulósico (sistema S3)

Composição	Formulação				
	S3M1	S3M2	S3M3	S3M4	S3M5
Fase aquosa					
MetHCl	0,40 g	0,40 g	0,40 g	0,40 g	0,40 g
Poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila) (Eud S100)	3,60 g	1,80 g	—	1,80 g	—
Dispersão aquosa de cloreto de poli(metacrilato de trimetilamonioetila-co-metacrilato de metila-co-acrilato de etila) (Eud RS30D)	—	6,00 g	12,00 g	—	—
Hidroxipropilmetilcelulose (Meth F4M)	—	—	—	1,80 g	3,60 g
Tampão fosfato (pH = 7,4)	200,0 mL	200,0 mL	200,0 mL	400,0 mL	400,0 mL

Nesse método, o material polimérico foi dissolvido/disperso em solução tampão fosfato pH = 7,4 (4,82 mmol.L⁻¹ de K₂HPO₄ e 1,00 mmol.L⁻¹ de KH₂PO₄) por agitação magnética (800 rev.min⁻¹), na temperatura ambiente. Em seguida, sob agitação magnética, o MetHCl foi adicionado. Após a dissolução do fármaco, a fase aquosa foi mantida por 12 h a 5±1 °C. Transcorrido esse período, a formulação foi conduzida à secagem por aspersão, utilizando o Spray Dryer LABMAQ, modelo MSD 1.0.

As condições de secagem para a formação das micropartículas foram: diâmetro do atomizador: 0,82 mm, pressão de atomização: 3 kgf.cm⁻², fluxo do ar de secagem: 50 L.min⁻¹, fluxo de alimentação da formulação em secagem: 0,44 L.h⁻¹, temperatura de entrada: 150±5 °C e temperatura de saída: 60±5 °C. As micropartículas foram obtidas em triplicata. Além disso, micropartículas designadas de S3M6 a S3M10 foram desenvolvidas, na ausência do ativo, compondo, respectivamente, as formulações controle para os materiais designados de S3M1 a S3M5 (Tabela 06). Todos os produtos microparticulados que integram o sistema S3 foram armazenados na temperatura ambiente, sob vácuo.

3.3.1.4 Sistema S4: micropartículas contendo cloridrato de metformina, desenvolvidas pelo método de secagem por aspersão, a partir do sistema reticulado constituído por poli(álcool vinílico), β -ciclodextrina e glutaraldeído

O sistema denominado S4 foi desenvolvido baseando-se no artigo de PENG *et al.* (2006), no qual os autores relatam a preparação de membranas de poli(álcool vinílico) (PVAI) reticuladas com glutaraldeído (GAI), na presença e na ausência de β -ciclodextrina (β -CD), com o propósito de separar hidrocarbonetos aromáticos de hidrocarbonetos alifáticos. A hipótese estabelecida ao presente estudo foi centrada na obtenção de micropartículas poliméricas contendo MetHCl, pelo método de secagem por aspersão, a partir dos materiais reticulados (Figura 11), elaborados com diferentes proporções molares entre PVAI/ β -CD/GAI, compondo um planejamento fatorial.

O planejamento fatorial empregou três variáveis e dois níveis (2³), conforme apresentado na Tabela 07, mantendo como parâmetros fixos a quantidade de ácido clorídrico 37 % P.A. (HCl) (0,25 mL ou 3,0 mmol) e de poli(álcool vinílico) (PVAI)

(1,000 g ou 20,1 mmol em relação ao mol do mero), a temperatura (60 °C) e o tempo reacional (1 h).

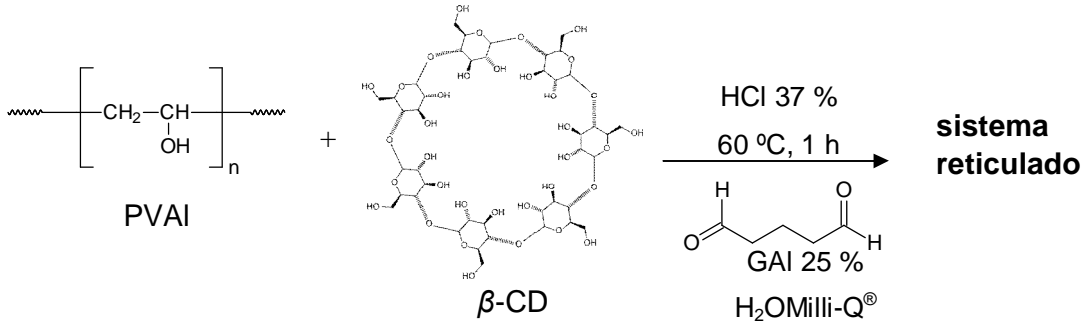


Figura 11 – Esquema de preparação dos materiais reticulados que formam o sistema S4

Tabela 07 – Variáveis, níveis e combinações indicadas para a obtenção dos materiais reticulados a partir do sistema PVAI/ β -CD/GAI (sistema S4)

Variáveis	Níveis	
	nível (-)	nível (+)
1 β -ciclodextrina (β -CD)	2,8375 g (2,5 mmol)	5,6750 g (5,0 mmol)
2 Glutaraldeído 25% (GAI)	0,2 mL (0,53 mmol)	1,0 mL (2,65 mmol)
3 H ₂ O Milli-Q [®]	200 mL	100 mL

Ensaíos	Combinações		
	variável 1	variável 2	variável 3
material reticulado 1	-	-	-
material reticulado 2	+	-	-
material reticulado 3	-	+	-
material reticulado 4	+	+	-
material reticulado 5	-	-	+
material reticulado 6	+	-	+
material reticulado 7	-	+	+
material reticulado 8	+	+	+

Para cada experimento indicado na Tabela 07, foi feita uma reação na ausência do ativo (controle negativo) e outra que, após o tempo reacional, foi neutralizada (pH 7,0 \pm 0,2) e acrescida do MetHCl, 10 % em massa, compondo um total de 16 diferentes condições experimentais. Paralelamente, foram conduzidos 4 estudos adicionais, na presença do fármaco, para a obtenção de materiais sem o PVAI (2 ensaios), sem a β -CD (1 ensaio) e o último, sem o GAI, perfazendo um total de 20 diferentes formulações que integram o S4 (Tabela 08).

Dessa forma, considerando cada formulação indicada na Tabela 08, o volume estabelecido de água Milli-Q[®] foi aquecido a 60 \pm 2 °C e, sob agitação magnética

(1000 rev.min⁻¹), foi adicionado lentamente o PVAI. Após a dissolução do polímero, foram adicionados o HCl 37 % e a β -CD. Em seguida, foi colocado o GAI 25 %.

Tabela 08 – Composição das formulações de micropartículas poliméricas a partir dos materiais reticulados entre PVAI/ β -CD/GAI (sistema S4)

Formulação	Composição*				
	PVAI	β-CD	GAI 25%	H₂O Milli-Q®	MetHCl
S4M1	1,00 g	2,8375 g	0,20 mL	200 mL	—
S4M2	1,00 g	5,6750 g	0,20 mL	200 mL	—
S4M3	1,00 g	2,8375 g	1,00 mL	200 mL	—
S4M4	1,00 g	5,6750 g	1,00 mL	200 mL	—
S4M5	1,00 g	2,8375 g	0,20 mL	100 mL	—
S4M6	1,00 g	5,6750 g	0,20 mL	100 mL	—
S4M7	1,00 g	2,8375 g	1,00 mL	100 mL	—
S4M8	1,00 g	5,6750 g	1,00 mL	100 mL	—
S4M9	1,00 g	2,8375 g	0,20 mL	200 mL	0,458 g
S4M10	1,00 g	5,6750 g	0,20 mL	200 mL	0,773 g
S4M11	1,00 g	2,8375 g	1,00 mL	200 mL	0,481 g
S4M12	1,00 g	5,6750 g	1,00 mL	200 mL	0,797 g
S4M13	1,00 g	2,8375 g	0,20 mL	100 mL	0,458 g
S4M14	1,00 g	5,6750 g	0,20 mL	100 mL	0,773 g
S4M15	1,00 g	2,8375 g	1,00 mL	100 mL	0,481 g
S4M16	1,00 g	5,6750 g	1,00 mL	100 mL	0,797 g
S4M17	1,00 g	—	1,00 mL	100 mL	0,166 g
S4M18	—	2,8375 g	1,00 mL	100 mL	0,452 g
S4M19	—	5,6750 g	1,00 mL	100 mL	0,686 g
S4M20	1,00 g	5,6750 g	—	100 mL	0,767 g

* Para todas as formulações, foram utilizados 0,25 mL de HCl 37 %, durante as reações. Após transcorrido o tempo reacional, foi empregado, em todos os casos, solução aquosa de NaOH 1 mol.L⁻¹ (aproximadamente 3 mL) para a neutralização.

Transcorrido o período de 1 h, o aquecimento foi removido e, com uma solução de NaOH 1 mol.L⁻¹, em potenciômetro digital, o pH foi elevado a um valor em torno da neutralidade (pH 7,0 \pm 0,2). Nesse momento, para as reações de S4M9 a S4M20, foi adicionado o MetHCl, na proporção de 1:10 (10 %) em relação à massa total de reagentes, excluindo o solvente.

Por fim, para a formação das micropartículas, foi realizada a secagem por aspersão no equipamento Spray Dryer LABMAQ (modelo MSD 1.0), empregando as mesmas condições padronizadas para o sistema S3. Todas as formulações foram obtidas em duplicata.

Considerando os resultados obtidos quanto à eficiência de dissolução do fármaco proveniente das formulações de S4M9 a S4M16, foi estabelecido o efeito

principal para cada variável examinada (β -CD, GAI e H₂O Milli-Q[®]), bem como os efeitos de interação, permitindo indicar as condições mais favoráveis à liberação modificada do MetHCl a partir dos materiais reticulados que integram o sistema PVAI/ β -CD/GAI.

3.3.1.5 Misturas físicas

Para uma caracterização mais completa e comparativa dos sistemas microparticulados em estudo, foram preparadas diferentes misturas físicas, envolvendo os diferentes polímeros utilizados e o fármaco MetHCl. Para o sistema S1, a mistura física foi manipulada na proporção, em massa, de 1:99 (MetHCl:PHBV) (1 %). Para os demais sistemas (S2, S3 e S4), as misturas físicas foram obtidas na proporção, em massa, de 1:9 [MetHCl:material(is) de partida] (10 %).

3.3.2 Rendimento

3.3.2.1 Sistema S1

Considerando cada formulação, de S1M1 a S1M9, o rendimento foi calculado pela razão entre a massa obtida após a preparação das micropartículas pela soma das massas do PHBV, do MetHCl e do tensoativo polissorbato 80 (Tween[®] 80), excluindo os demais componentes, conforme descrito na Equação 1.

$$R = \frac{\text{massa micropartículas}}{\text{massa (PHBV + MetHCl + Tween}^R\text{ 80)}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

3.3.2.2 Sistema S2

Para cada uma das formulações do sistema S2, o rendimento foi obtido pela razão entre a massa recuperada após a secagem das micropartículas pela soma das massas do(s) polímero(s), do MetHCl e do(s) tensoativo(s), excluindo o MeOH e a vaselina líquida, como indicado na Equação 2.

$$R = \frac{\text{massa micropartículas}}{\text{massa}[\text{polímero}(s) + \text{MetHCl} + \text{tensoativo}(s)]} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

3.3.2.3 Sistema S3

Para as formulações de S3M1 a S3M10, em cada caso, o rendimento foi calculado pela razão entre a massa recuperada a partir da secagem por aspersão das micropartículas pela soma das massas dos componentes sólidos do sistema [polímero(s), MetHCl, K₂HPO₄ e KH₂PO₄], excluindo a massa de água Milli-Q[®] empregada, como apresentado na Equação 3.

$$R = \frac{\text{massa micropartículas}}{\text{massa}[\text{polímero}(s) + \text{MetHCl} + \text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4]} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

3.3.2.4 Sistema S4

Para as formulações que constituem o sistema S4, considerando cada situação, o rendimento foi determinado pela razão entre a massa das micropartículas obtidas por *spray-drying* pela soma das massas dos componentes do sistema reticulado (PVAI, β-CD, GAI, HCl, NaOH e MetHCl), excluindo a massa de água Milli-Q[®] utilizada, conforme o representado na Equação 4.

$$R = \frac{\text{massa micropartículas}}{\text{massa}(\text{PVAI} + \beta - \text{CD} + \text{GAI} + \text{HCl} + \text{NaOH} + \text{MetHCl})} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

3.3.3 Determinação do teor de umidade

O teor percentual de água presente nas micropartículas foi avaliado pelo método de Karl Fischer, empregando o analisador de umidade semi-automático QUIMIS (modelo Q349-2). Para cada material, uma massa conhecida, de aproximadamente 80 mg, foi pesada e submetida ao processo de titulação, com detecção coulométrica do ponto final. O procedimento foi realizado em triplicata para as formulações dos sistemas S1, S2 e S3 e em duplicata para os produtos que formam o sistema S4.

3.3.4 Determinação do cloridrato de metformina incorporado nas micropartículas

A concentração de fármaco incorporado nas micropartículas (mg.g^{-1}) e a eficiência de encapsulação (%) (Equação 5) foram obtidas para os sistemas de S1 a S4, a partir dos ensaios de quantificação desenvolvidos por espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), em espectrofotômetro HP 8452-A diode array, com varredura de absorção na faixa de 190 a 820 nm, utilizando cubetas de quartzo de 1 cm de caminho ótico.

$$\text{Eficiência de incorporação (\%)} = \frac{\text{massa do MetHCl nas micropartículas}}{\text{massa inicial (teórica) do MetHCl}} \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

Previamente, o método de espectrofotometria UV-Vis passou pelo processo de validação analítica, conforme descrito a seguir.

3.3.4.1 Validação do método analítico para a quantificação do MetHCl presente nas micropartículas dos sistemas poliméricos em estudo

A validação do método analítico por espectrofotometria na região do ultravioleta-visível foi realizada segundo os critérios propostos pelo ICH (*International Conference on Harmonization of the technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use*) (1996) e resolução R.E. 899, de 29 de maio de 2003 (ANVISA, 2003). Os parâmetros avaliados foram linearidade, precisão intermediária, repetibilidade, exatidão, especificidade, limite de detecção e limite de quantificação, sendo os ensaios realizados em espectrofotômetro HP 8452-A diode array, no comprimento de onda de 232 nm (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005) para os sistemas S1, S2 e S3 e no comprimento de onda de 238 nm para o sistema S4.

Para o estudo da linearidade, foram desenvolvidas três curvas analíticas, com sete níveis de concentração em cada uma (1, 2, 5, 10, 15, 20 e 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), utilizando água destilada como solvente ao sistema S1, tampão fosfato (pH = 7,4) para os sistemas S2 e S3 e metanol para o sistema S4. A equação de reta e o coeficiente de correlação (r) foram determinados. Os limites de detecção e de

quantificação foram calculados, através da relação entre o desvio padrão da curva analítica e a sua inclinação, usando o fator multiplicador sugerido pela norma ICH (1996), conforme demonstrado nas Equações 6 e 7.

$$LD = \frac{3,33 \times DP}{B} \quad (\text{Equação 6})$$

$$LQ = \frac{10 \times DP}{B} \quad (\text{Equação 7})$$

Sendo, LD, o limite de detecção; LQ, o limite de quantificação; DP, o desvio padrão da curva analítica; e B, o coeficiente angular.

Para avaliar a repetibilidade, três concentrações diferentes (4, 12 e 22 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) foram analisadas em triplicata, totalizando nove determinações, sendo o resultado expresso em termos de desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação percentual (CV%) intra-dia.

A precisão intermediária foi estudada através da comparação entre as determinações de uma mesma concentração (12 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) realizadas em três dias consecutivos, calculando-se posteriormente o DPR ou CV% inter-dia.

A exatidão foi determinada através do método de recuperação. Para isso, foi adicionada uma quantidade conhecida de fármaco (2 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) à solução-amostra, resultando nas concentrações de 12, 15 e 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os resultados foram expressos como porcentagem de recuperação.

As soluções-amostra utilizadas para a avaliação da repetibilidade, precisão intermediária e exatidão foram preparadas a partir da formulação S1M9, quando da validação do método analítico para o sistema S1. Para os sistemas S2 e S3, as soluções-amostra foram obtidas a partir das micropartículas S3M1. E, para o sistema S4, foram empregadas as micropartículas S4M9 na preparação das soluções-amostra necessárias.

3.3.4.2 Determinação do cloridrato de metformina incorporado nas micropartículas do Sistema S1

Para avaliar a recuperação do MetHCl nos materiais poliméricos microparticulados do sistema S1, em balão volumétrico de 10 mL, foram adicionados 4,00 mL de clorofórmio a uma massa exata, de aproximadamente 50 mg de micropartículas. Foi realizada uma dispersão inicial das micropartículas em agitador tipo vórtex por 5 min. Na sequência, o material foi mantido por 12 h em agitação magnética ($1000 \text{ rev.min}^{-1}$), para a soltuação total do polímero. Após, foi adicionado 2,00 mL de água destilada, submetendo o balão volumétrico à agitação magnética ($1000 \text{ rev.min}^{-1}$), por 2 h. Esse procedimento foi repetido por mais 2 vezes, para a completa extração do fármaco, compondo um volume total de 6,00 mL de água destilada. A emulsão foi transferida para um tubo cônico e centrifugada por 20 min a $5000 \text{ rev.min}^{-1}$. Após, o sobrenadante aquoso foi cuidadosamente separado e filtrado por membrana de poli(fluoreto de vinilideno) (Durapore® membrane, filtro hidrofílico, $0,22 \mu\text{m}$ de abertura dos poros, Millipore, Bedford, Estados Unidos). Quando necessário, o filtrado foi diluído em quantidade adequada de água destilada, a fim de se obter uma concentração teórica de $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A concentração do cloridrato de metformina foi determinada por espectrofotometria UV-Vis em 232 nm (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005), frente à curva analítica previamente elaborada, na faixa de 1 a $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A determinação quantitativa foi realizada em triplicata, para cada uma das formulações em estudo.

3.3.4.3 Determinação do cloridrato de metformina incorporado nas micropartículas dos Sistemas S2 e S3

Uma massa exata de micropartículas, para cada formulação do sistema S2 (de S2M1 a S2M5) e do sistema S3 (S3M1 a S3M5), equivalente a 20 mg de MetHCl, foi pesada e mantida sob agitação magnética ($1000 \text{ rev.min}^{-1}$) em 80 mL de solução aquosa de NaOH $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, por 12 h. O volume foi completado, em balão volumétrico, como o mesmo solvente, até 100 mL e filtrado por membrana de poli(fluoreto de vinilideno) (Durapore® membrane, filtro hidrofílico, $0,22 \mu\text{m}$ de abertura dos poros, Millipore, Bedford, Estados Unidos). Em seguida, 500 μL do

filtrado foi diluído, em balão volumétrico, para 10 mL de solução tampão fosfato (pH 7,4). A concentração do ativo foi determinada por UV-Vis em 232 nm (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005), frente à curva analítica padrão anteriormente obtida, na faixa de 1 a 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A quantificação foi desenvolvida em triplicata, para cada material microparticulado contendo o MetHCl.

3.3.4.4 Determinação do cloridrato de metformina incorporado nas micropartículas do Sistema S4

Para cada produto do sistema S4 contendo o fármaco, de S4M9 a S4M20, foi pesada uma massa exata de micropartículas, equivalente a 5 mg de MetHCl. Esse material foi disperso em 20 mL de metanol e mantido, por 12 h, em agitação magnética ($1000 \text{ rev.min}^{-1}$). O volume foi perfeito, em balão volumétrico, com o mesmo solvente, até 25 mL e filtrado por membrana de poli(fluoreto de vinilideno) (Durapore[®] membrane, filtro hidrofílico, 0,22 μm de abertura dos poros, Millipore, Bedford, Estados Unidos). Em seguida, 1,25 mL do filtrado foi diluído em metanol, novamente empregando um balão volumétrico, para compor 25 mL. A concentração do fármaco foi determinada por UV-Vis em 238 nm, devido ao deslocamento batocrômico ocasionado pelo uso do solvente orgânico, frente à curva analítica padrão previamente obtida, na faixa de 1 a 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O doseamento foi realizado em triplicata, para todas as formulações contendo MetHCl.

3.3.5 Caracterização dos sistemas poliméricos microparticulados

3.3.5.1 Análises morfológicas e de superfície

A avaliação morfológica e de superfície das micropartículas, pertencentes aos sistemas de S1 a S4, foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), de acordo com SOUZA (1998). As micropartículas foram levadas à estufa a vácuo e, posteriormente, fixadas em suporte metálico. Na seqüência, foram submetidas à metalização com ouro no equipamento Balzers Sputtering SCD-030. As micrografias foram obtidas após a visualização das amostras em microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 6360 LV, empregando voltagens de aceleração de 10 ou 15 kV.

O registro das imagens foi realizado por meio da utilização do software específico, *The SEM Control User[®] Interface* (versão 6.01, Jeon Technics, Tokyo, Japão).

As micropartículas que compõem os sistemas poliméricos, o fármaco MetHCl, os materiais de partida e as respectivas misturas físicas foram examinadas em difratômetro de raio-X Shimadzu XRD-6000, scan de 2º.min⁻¹ e 2θ de 5º a 50º, radiação Kα de cobre (λ = 1,5418 Å), corrente de 40 mA e voltagem 40 kV, para a observação de picos indicativos de cristalinidade (CANEVAROLO JR., 2004).

A cristalinidade das formulações pertencentes ao sistema S1 foi determinada a partir dos resultados obtidos por difração de raio-X. Para cada amostra, o difratograma foi modelado por uma função Lorentziana, empregando o software *Origin[®] Technical Graphics and Data Analysis in Windows[®]* (versão 6.1, MicroCal Software, Northampton, Estados Unidos). Assim, foi possível obter as áreas correspondentes aos picos de cristalinidade e a área correspondente à região amorfa de cada material (POLEY *et al.*, 2005). O grau de cristalinidade (%) foi calculado a partir da Equação 8.

$$\%C = \frac{A_t - A_a}{A_t} \times 100 \quad (\text{Equação 8})$$

Sendo, %C, o grau de cristalinidade (%); A_t , a área total do difratograma; A_a , a área correspondente à região amorfa da amostra.

3.3.5.2 Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica

O tamanho de partícula das formulações que integram o sistema S1 foi avaliado por espectrometria de difração a laser, utilizando o equipamento Cilas 920 L. As amostras pulverizadas e secas foram dispersas em água filtrada e sonicadas por 1 min, antes de ser realizada a medida. A partir da suspensão homogênea obtida, por meio do software específico, *The Particle Expert[®]* (versão 5.12, Cilas, Marseille, França), o diâmetro médio e a distribuição de tamanho das micropartículas foram determinados. O *span*, valor matemático definido como a medida da dispersão granulométrica (CHEN & DAVIS, 2002), que avalia a variação do volume de distribuição das partículas em relação ao diâmetro médio, foi calculado a partir da Equação 9.

$$span = \frac{d_{(v,90)} - d_{(v,10)}}{d_{(v,50)}} \quad (\text{Equação 9})$$

Sendo, $d_{(v,10)}$, $d_{(v,50)}$ e $d_{(v,90)}$, respectivamente, o diâmetro das partículas correspondente a 10 %, 50 % e 90 % da distribuição acumulada para a amostra.

3.3.5.3 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

As micropartículas poliméricas dos sistemas S1 a S4 foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho, em pastilha com KBr, empregando 4 mg de cada amostra e 196 mg de KBr grau espectroscópico (2 % m/m), no equipamento Excalibur Series FTS 3500GX, Bio-Rad Laboratories, 32 scans.min⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹. Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (IVTF) dos materiais foram avaliados frente aos espectros obtidos para o fármaco MethCl, para os polímeros de partida e para as respectivas misturas físicas.

3.3.5.4 Análises térmicas

As análises térmicas das micropartículas do sistema S1, do MethCl, do PHBV e da mistura física MethCl:PHBV (1:99 m/m) foram desenvolvidas por calorimetria exploratória diferencial (CED) e por análise termogravimétrica (ATG).

A avaliação por CED foi realizada no equipamento Netzsch DSC 204 F1. Aproximadamente 5 mg de cada amostra foram colocados em cápsula de alumínio selada. O material foi submetido à análise na faixa de temperatura de – 20 a 200 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, sob fluxo de nitrogênio de 15 mL.min⁻¹. Após, a amostra foi resfriada a uma taxa de resfriamento de 10 °C.min⁻¹ e, novamente aquecida, nas mesmas condições empregadas para a primeira varredura (CANEVAROLO JR., 2004; LAMPRECHT *et al.*, 2000).

A estabilidade térmica das amostras foi estudada por meio da ATG em equipamento Netzsch TG 209. As medidas foram realizadas em atmosfera de nitrogênio, com taxa de aquecimento de 20 °C.min⁻¹, na faixa de temperatura de 20 a 800 °C.

3.3.5.5 Avaliação por espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C) no estado sólido, para as micropartículas S4M1, S4M2, S4M7 e S4M8, foram obtidos a partir do procedimento de polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, no espectrômetro de ressonância magnética nuclear VARIAN (modelo Mercury Plus BB), operando em 75,457 MHz, na temperatura ambiente. Foram utilizados rotores cilíndricos de nitreto de silício, com diâmetro interno de 7 mm e tampa de Kel-F, carregados com aproximadamente 200 mg de amostra. A taxa de rotação, segundo o ângulo mágico, foi de 8 kHz. Os principais parâmetros estabelecidos para a análise foram o ângulo de pulso $\theta = 37^\circ$, o tempo de contato de 3 ms, o tempo de aquisição de 20 ms e o tempo de espera para a relaxação de 3 s. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm, em relação ao hexametilbenzeno (sinal referente aos grupamentos metila em $\delta = 17,3$ ppm).

Empregando as mesmas condições de reação descritas no item 3.3.1.4, foi desenvolvido um material reticulado complementar, a partir de 100 mL de água Milli-Q®, 1,00 g de PVAI (20,1 mmol em relação ao mol do mero), 0,25 mL de HCl 37 % (m/m) (3,0 mmol) e 1,00 mL de GAI 25 % (V/V) (2,65 mmol), na ausência de β -CD. Após, o produto foi lavado, de forma exaustiva, com água Milli-Q®, até um valor de pH próximo ao neutro. Essa amostra reticulada foi seca em estufa a vácuo e submetida à avaliação por espectroscopia de RMN ^{13}C , de acordo com os mesmos parâmetros aplicados para as micropartículas, com a finalidade de permitir uma análise comparativa.

3.3.6 Estudo de liberação *in vitro*

O estudo da liberação *in vitro*, em triplicata, foi conduzido para o MetHCl e para as micropartículas contendo o fármaco, S1M9, de S2M1 a S2M5, de S3M1 a S3M5 e de S4M9 a S4M20. A liberação do ativo foi investigada em sistema de células de fluxo, previsto na farmacopéia americana (aparato 4) (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005) e recomendado para sistemas microparticulados de liberação modificada (ZOLNIK, RATON & BURGESS, 2005).

Inicialmente, o aparato foi montado, conectando as 3 células de vidro à bomba peristáltica, através de cânulas de silicone. O meio de dissolução e as células

de vidro foram mantidos em banho termostatzado a $37 \pm 0,5$ °C. Membranas de fibra de vidro (AP25, Millipore, Bedford, Estados Unidos) foram acopladas às células, a fim de impedir a passagem de materiais particulados para as alíquotas a serem coletadas. A liberação do MethCl puro e a partir das micropartículas foi avaliada em fluido gástrico simulado (HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, pH = 1,0) e em tampão fosfato pH 7,4 ($4,82 \text{ mmol.L}^{-1}$ de K_2HPO_4 e $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ de KH_2PO_4), com o propósito de mimetizar as condições gastrintestinais. A massa de micropartículas colocada no interior de cada célula de vidro foi correspondente a 20 mg de MethCl, a partir dos resultados de quantificação indicados no item 3.3.4. O fluxo do meio de dissolução foi mantido em 1 mL.min^{-1} , durante todo o período de avaliação. A coleta das alíquotas provenientes do estudo de liberação foi realizada em provetas para controle do fluxo, nos intervalos de tempo pré-determinados de 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 e 120 min para o estágio ácido e em 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300 e 360 min para o estágio alcalino, totalizando 8 h de experimento.

As alíquotas foram analisadas por espectrofotometria na região do ultravioleta em 232 nm (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005), utilizando espectrofotômetro UV/Vis HP 8452-A diode array, a fim de determinar a concentração do fármaco presente, após a filtração por membrana de poli(fluoreto de vinilideno) (Durapore® membrane, filtro hidrofílico, $0,22 \mu\text{m}$ de abertura dos poros, Millipore, Bedford, Estados Unidos). Os perfis de dissolução (porcentagem dissolvida *versus* tempo) foram obtidos para o MethCl puro e para as formulações de micropartículas, indicando os valores médios e os respectivos desvios padrão.

3.3.6.1 Avaliação dos perfis de liberação

Os perfis de liberação *in vitro* foram analisados por meio do teste da razão ou eficiência de dissolução e dos métodos modelo-dependentes, considerando os resultados obtidos durante o estágio ácido de dissolução. A eficiência de dissolução do MethCl foi determinada segundo GIL, ORLANDO & MATIAS (2005), UNITED STATES PHARMACOPEIA (2005) e KHAN (1975), e comparada com a eficiência de dissolução das diferentes formulações microparticuladas através do método estatístico de análise de variância (ANOVA), no nível de significância de 5 %

($p < 0,05$). A eficiência de dissolução é uma avaliação modelo-independente, definida pela área sob a curva de dissolução, expressa como a percentagem da área de um retângulo que descreve 100 % da dissolução, em um determinado período de tempo (Equação 10).

$$ED = \frac{\int_0^t y \cdot dt}{y_{100} \cdot t} \times 100\% \quad (\text{Equação 10})$$

Sendo, y a porcentagem de fármaco dissolvido no tempo t .

Os métodos modelo-dependentes destinados à avaliação dos perfis de liberação foram estudados com o auxílio do software *MicroMath Scientist*[®] (versão 2.01, Saint Louis, Estados Unidos).

A descrição matemática dos perfis de liberação *in vitro* foi realizada pelo ajuste dos dados experimentais ao modelo monoexponencial (Equação 11), ao modelo biexponencial (Equação 12), ao modelo de ordem zero (Equação 13) e ao modelo de Weibull (Equação 14), considerando os resultados do critério de seleção de modelo (MSC), do coeficiente de correlação, do ajuste gráfico e da coerência dos valores encontrados para as constantes de velocidade para cada modelo.

$$\% D = 100(1 - e^{-kt}) \quad (\text{Equação 11})$$

$$\% D = 100[1 - (Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t})] \quad (\text{Equação 12})$$

$$\% D = kt \quad (\text{Equação 13})$$

$$\% D = 100[1 - e^{-(t/Td)^b}] \quad (\text{Equação 14})$$

Sendo, $\%D$, o percentual do fármaco dissolvido no tempo t , k , α e β , as constantes cinéticas de dissolução observadas; A e B , os fatores relativos às concentrações iniciais do fármaco, que contribuíram para cada fase de dissolução;

T_d , o tempo no qual 63,2 % do fármaco é dissolvido; b , o parâmetro relacionado às características estruturais e geométricas da forma farmacêutica.

Com a finalidade de ampliar a informação sobre o mecanismo de liberação do fármaco a partir dos sistemas microparticulados, o modelo semi-empírico de Korsmeyer-Peppas (Equação 15) foi também aplicado.

$$f_t = at^n \quad (\text{Equação 15})$$

Sendo, a , a constante que incorpora as características estruturais e geométricas da forma farmacêutica; n , o expoente de liberação que é indicativo do mecanismo de liberação; f_t representa a fração do fármaco dissolvido no tempo t .

Para sistemas esféricos, a lei das potências apresenta duas interpretações físico-químicas distintas. Quando n assume o valor de 0,43, isso indica que a liberação da substância é controlada por difusão (mecanismo de transporte Fickiano). Quando n é superior a 0,85, indica que a liberação é controlada pelo inchamento do polímero (transporte caso II ou mecanismo de transporte não-Fickiano). Valores de n entre 0,43 e 0,85 estão relacionados com a sobreposição de ambos os fenômenos, denominado de transporte anômalo (SIEPMANN & PEPPAS, 2001).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SISTEMA S1: MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLORIDRATO DE METFORMINA, FORMULADAS PELO MÉTODO DE EMULSÃO MÚLTIPLA E EVAPORAÇÃO DO SOLVENTE ORGÂNICO, A PARTIR DO POLI(3-HIDROXIBUTIRATO-CO-3-HIDROXIVALERATO)

As formulações S1M1 a S1M4, obtidas segundo o método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico, apresentaram aspecto macroscópico pulverulento e coloração levemente amarelada, tonalidade semelhante àquela observada para o PHBV puro.

4.1.1 Rendimento

Com base na Equação 1, foi possível calcular o rendimento para as formulações S1M1 a S1M4. Os resultados percentuais, apresentados como valor médio e desvio padrão, estão indicados na Tabela 09.

Tabela 09 – Rendimento* obtido para as formulações S1M1 a S1M4, a partir do método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico

Formulação	MethCl inicial (g)	Rendimento (%)
S1M1	2,000	47,1 ± 2,3
S1M2	1,000	60,4 ± 2,1
S1M3	0,200	79,3 ± 2,4
S1M4	—	86,2 ± 1,7

* média (n = 3) ± desvio padrão

Foi verificado que o rendimento médio aumentou à medida que a massa de fármaco empregada foi reduzida, sendo que o melhor rendimento (86,2 ± 1,7 %) foi observado quando da ausência do ativo. Esses resultados podem estar relacionados às características químicas do MethCl, molécula de baixa massa molar ($MM = 165,63 \text{ g.mol}^{-1}$) e elevada solubilidade em água (superior a 300 mg.mL⁻¹ a 25°C) (COLORCON, 2005; MERCK, 2001; BRETNALL & CLARKE, 1998), fatores que podem ter permitido uma maior migração do fármaco para a fase

aquosa externa, durante a etapa de evaporação do solvente, reduzindo a recuperação do produto na forma de micropartículas.

4.1.2 Eficiência de encapsulação

4.1.2.1 Validação do método analítico para a quantificação do MetHCl presente nas micropartículas do sistema S1

O estudo de linearidade do método de quantificação, a partir das absorvâncias medidas para as três curvas analíticas, revelou um valor de coeficiente de correlação (r) médio superior a 0,9999, indicando uma regressão linear significativa. A Figura 12 ilustra a representação gráfica da curva analítica média obtida para quantificação do MetHCl em solução aquosa, indicando a equação da reta e o r médio encontrado.

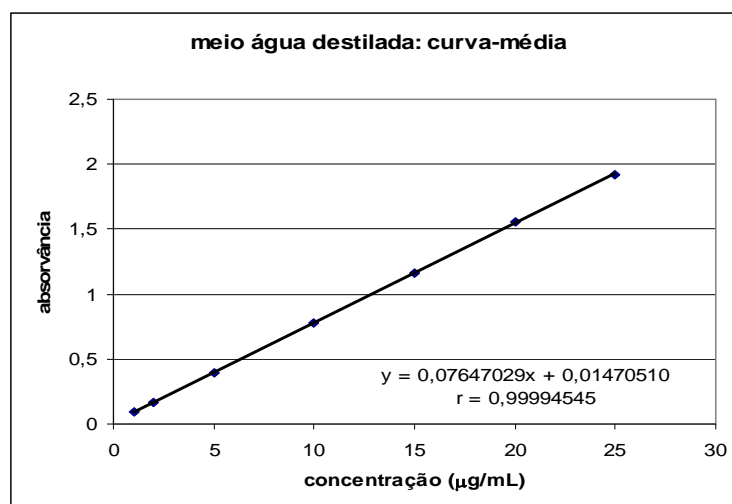


Figura 12 – Representação gráfica da curva analítica padrão para determinação do MetHCl obtida por espectrofotometria UV-Vis ($\lambda = 232$ nm), em água destilada

Com os dados provenientes da avaliação de linearidade, foram calculados os limites de detecção e de quantificação, através das Equações 6 e 7, respectivamente. Os valores obtidos foram $0,09285 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para o limite de detecção e $0,2788 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para o limite de quantificação.

Os resultados de repetibilidade e de precisão intermediária, expressos em termos de desvio padrão relativo (DPR), estão apresentados na Tabela 10. Para

ambos os estudos, os valores do desvio padrão relativo foram inferiores a 5 %, demonstrando repetibilidade e precisão intermediária adequadas para o método analítico empregado (ANVISA, 2003). No que diz respeito à avaliação da exatidão, o método permitiu a recuperação de 98,78 % para concentração final de 12 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 97,23 % para 15 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 96,42 % para 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, o que caracteriza o método como exato, segundo preceitos do ICH (1996) e da ANVISA (2003).

Tabela 10 – Valores experimentais obtidos nos ensaios de repetibilidade e precisão intermediária

Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	DPR dia 1 (%)	DPR dia 2 (%)	DPR dia 3 (%)	Média (%)
4	4,71			
12	2,87	3,12	3,33	3,11
22	3,10			
Média (%)	3,56			

4.1.2.2 Recuperação do MetHCl presente nas micropartículas

Os resultados verificados para o teor de ativo (mg.g^{-1}) e para a eficiência de encapsulação do fármaco nas micropartículas S1M1 a S1M4 estão sumarizados na Tabela 11.

Tabela 11 – Teor¹ e eficiência de encapsulação² do MetHCl nas micropartículas S1M1 a S1M4

Formulação	MetHCl incorporado (mg.g^{-1})	Eficiência de encapsulação (%)
S1M1	17,0 \pm 3,7	0,85
S1M2	12,9 \pm 2,2	1,29
S1M3	5,5 \pm 0,78	2,77
S1M4	—	—

¹ média (n = 3) \pm desvio padrão

² média (n = 3)

As micropartículas apresentaram valores baixos para a eficiência de incorporação do MetHCl, variando entre 0,85 % (S1M1) e 2,77 % (S1M3). Esse fato pode ser decorrente, como mencionado anteriormente, da facilidade de migração do fármaco do interior das micropartículas para a fase aquosa externa, durante a etapa de evaporação do solvente. Dessa forma, a baixa incorporação do ativo nos sistemas microparticulados corrobora com os valores de rendimento apresentados na Tabela 09, permitindo inferir que a maior parcela da massa recuperada foi

formada por PHBV. Assim, quando são comparadas essas formulações contendo o MetHCl, o melhor rendimento ($79,3 \pm 2,4$ %) e a melhor eficiência de encapsulação (2,77 %) foram obtidos para a formulação S1M3.

Valores de eficiência de incorporação entre 10 e 15 % podem ser estabelecidos como adequados para a encapsulação de fármacos hidrofílicos de baixa massa molar. Partículas de PLGA contendo cromoglicato sódico foram obtidas com eficiência de incorporação variando entre 10 e 15 % (PELTONEN *et al.*, 2004). Micropartículas metacrílicas contendo tosilato de buformina não excederam 15 % de eficiência de incorporação desse fármaco (FUNDUEANU *et al.*, 2001). Micropartículas de PLGA contendo digluconato de clorexida revelaram uma eficiência de encapsulação de aproximadamente 10 % (YUE *et al.*, 2004). Assim, considerando esses resultados, diversas estratégias referenciadas na literatura foram propostas ao sistema, na tentativa de aumentar a eficiência de encapsulação.

Segundo BLANCO PRIETO *et al.* (1997), a alteração do pH da fase contínua se caracteriza como uma alternativa viável para elevar a incorporação de um composto bioativo hidrofílico em micropartículas. HOMBREIRO PÉREZ *et al.* (2003) conseguiram 57 % de eficiência na encapsulação do cloridrato de propranolol (fármaco hidrofílico, com $pK_a = 9,50$) em micropartículas de PCL [poli(ϵ -caprolactona)] preparadas pelo método da emulsão múltipla e evaporação do solvente. Isso foi possível quando promoveram a alteração do pH da fase aquosa externa para 12,0. Os autores relacionaram esses resultados a uma menor dissociação do fármaco (em valores de pH superiores ao seu pK_a), o que reduziu a solubilidade do fármaco na fase aquosa externa.

Outra possibilidade mencionada é a adição de um eletrólito (como o NaCl) na fase aquosa externa, que promove um incremento da pressão osmótica, dificultando a migração do fármaco presente nas micropartículas para a fase externa (FREYTAG *et al.*, 2000; PISTEL & KISSEL, 2000; DENG *et al.*, 1999). Como estratégia complementar, a substituição da fase externa aquosa para uma solução hidroetanólica ou etanólica, na qual o fármaco esteja menos solúvel, pode ser considerada uma alteração experimental viável.

Estudos elaborados por PELTONEN *et al.* (2004) para aumentar a incorporação do cromoglicato sódico (fármaco hidrofílico) em nanopartículas de PLA [poli(ácido láctico)], revelaram que a adição de um co-solvente (acetona ou metanol) ao solvente habitual (clorofórmio ou diclorometano) da fase orgânica, melhorou a

incorporação da substância bioativa na matriz polimérica. Isso pode ser justificado pela difusão mais rápida do sistema solvente através da fase aquosa externa, resultando na formação das partículas em menor tempo.

4.1.3 Avaliação das alterações propostas ao método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico

A partir dos resultados discutidos nos itens 4.1.1 e 4.1.2 e, tomando como base a composição da formulação S1M3, foram propostas algumas alternativas para aumentar o valor do teor de incorporação do ativo nas micropartículas. Na fase orgânica, foi avaliada a influência da presença de acetona (25 %, V/V), visando uma coacervação mais rápida das micropartículas e uma redução da migração do fármaco para a fase aquosa externa. Na fase aquosa externa, foi testada a elevação do pH para um valor de 12,0, com solução aquosa de NaOH 1 mol.L⁻¹, a substituição de 50 % (V/V) da água destilada por álcool etílico ou ainda, a adição de 20 % (m/V) de cloreto de sódio nesse meio. Os resultados de rendimento, teor de MetHCl incorporado e eficiência de encapsulação para as micropartículas S1M5 a S1M9, com a indicação das correspondentes modificações experimentais, estão resumidos na Tabela 12.

Tabela 12 – Alterações experimentais, rendimento¹, teor¹ e eficiência de encapsulação² do MetHCl nas micropartículas S1M5 a S1M9

Formulação	Alteração experimental	Rendimento (%)	MetHCl incorporado (mg.g⁻¹)	Eficiência de encapsulação (%)
S1M5	MeCOMe (FO) ³	75,9 ± 2,7	1,9 ± 0,49	0,95
S1M6	NaCl (FAE) ³	77,3 ± 2,3	7,7 ± 0,86	3,84
S1M7	EtOH (FAE)	76,7 ± 3,1	6,6 ± 0,93	3,28
S1M8	meio alcalino (FAE)	80,2 ± 1,9	10,5 ± 0,74	5,23
S1M9	NaCl + meio alcalino (FAE)	79,6 ± 2,6	19,5 ± 0,81	9,76

¹ média (n = 3) ± desvio padrão

² média (n = 3)

³ Legenda: FO (fase orgânica), FAE (fase aquosa externa)

Quando parte do volume de clorofórmio foi substituído por acetona, como solvente à fase orgânica, foi observada uma redução da eficiência de encapsulação,

de 2,77 % (formulação S1M3) para 0,95 % (formulação S1M5), em oposição ao resultado esperado. Entre as justificativas para esse fato, é possível apontar a menor solubilidade do PHBV nesse meio orgânico, o que tornou o sistema mais instável à microencapsulação, resultando na maior perda de fármaco para a fase aquosa externa, com a conseqüente diminuição do teor médio de MetHCl incorporado nos materiais poliméricos microestruturados.

A utilização de NaCl e a substituição de parte da água destilada por álcool etílico na fase externa resultaram, respectivamente, em valores de eficiência de encapsulação de 3,84 % (formulação S1M6) e de 3,28 % (formulação S1M7). Esses resultados são mais elevados do que o obtido para a formulação S1M3 (2,77 %). Porém, não podem ser caracterizados como um aumento expressivo da incorporação do ativo nas micropartículas.

O emprego de uma solução aquosa alcalina como fase externa, ajustada para o pH de 12,0 com NaOH 1 mol.L⁻¹, conduziu a um aumento na eficiência de encapsulação, revelando um valor médio de 5,23 % (formulação S1M8). Entretanto, um incremento mais significativo na eficiência de incorporação foi atingido quando da modificação do pH da fase aquosa externa para um valor alcalino, concomitantemente à adição de cloreto de sódio nessa solução (formulação S1M9), apresentando um valor médio de 9,76 %, associado a um rendimento de $79,6 \pm 2,6$ %. Dessa forma, as modificações implementadas nas formulações, sobretudo àquelas aplicadas à formulação S1M9, foram estratégias determinantes para garantir valores de eficiência de encapsulação condizentes aos relatados na literatura para fármacos hidrofílicos, considerando as características particulares da molécula em estudo, uma substância altamente hidrofílica e de baixa massa molar.

4.1.4 Determinação do teor de umidade

A Tabela 13 fornece os resultados referentes ao teor de água presente nas micropartículas que integram o sistema S1, frente aos valores obtidos para o MetHCl e ao PHBV. Foi verificado que as micropartículas apresentaram um teor de água mais elevado do que os materiais de partida, variando entre $1,92 \pm 0,17$ % (formulação S1M4) e $2,38 \pm 0,22$ % (formulação S1M9). Esses valores indicam que o processo de secagem em estufa a vácuo a $50 \pm 2^\circ\text{C}$ por 4 h, não promoveu a

remoção total da umidade presente nos sistemas microparticulados em níveis condizentes aos verificados anteriormente para o fármaco e para o polímero. Isso pode estar relacionado à seleção de parâmetros de secagem não adequados ou ainda, às características estruturais dos materiais obtidos, que estabelecem interações de hidrogênio com a água, dificultando a sua retirada.

Tabela 13 – Teor de água¹ obtido para o MetHCl, para o PHBV e para as micropartículas do sistema S1

Material	Umidade (%)
MetHCl	0,84 ± 0,13
PHBV	0,63 ± 0,08
S1M1	2,27 ± 0,21
S1M2	2,19 ± 0,28
S1M3	2,16 ± 0,23
S1M4	1,92 ± 0,17
S1M5	2,34 ± 0,28
S1M6	2,05 ± 0,18
S1M7	2,15 ± 0,16
S1M8	2,35 ± 0,25
S1M9	2,38 ± 0,22

¹ média (n = 3) ± desvio padrão

A quantidade de água residual nos pós tem grande influência sob a sua estabilidade física, ao mesmo tempo em que controla a magnitude das forças capilares responsáveis pela agregação das partículas (BOSQUILLON *et al.*, 2004). Dessa forma, o teor de água tem relevância para prever possíveis alterações nos materiais elaborados.

4.1.5 Análises morfológicas e de superfície

Os resultados obtidos por MEV para o MetHCl, para o polímero PHBV e para as micropartículas do sistema S1 estão indicados nas Figuras 13 e 14. Foi observado que o fármaco (Figura 13 a) apresentou uma morfologia mais definida e que o polímero de partida (Figura 13 b) revelou, antes da preparação das micropartículas, uma forma aglomerada sem estrutura delimitada.

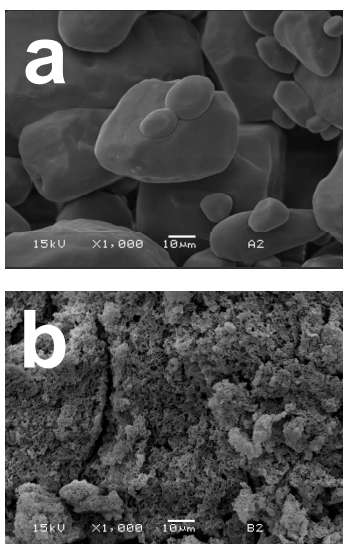


Figura 13 – Aspectos morfológicos do MethHCl puro (a) e do PHBV puro (b) por MEV

Por outro lado, as micropartículas (Figura 14), em geral, mostraram formato esférico, com superfície rugosa e com relativa variação do tamanho das partículas. Para as micropartículas obtidas na presença de acetona compondo a fase orgânica (Figura 14 e), foi evidenciada a presença de poros, atribuídos à rápida difusão desse solvente orgânico, o que pode inclusive, justificar a menor eficiência de encapsulação verificada para a formulação S1M5.

Aspectos morfológicos, semelhantes ao encontrado no presente trabalho, foram relatados por MAIA, SANTANA & RÉ (2004), quando da preparação de micropartículas pelo método de emulsão simples e evaporação do solvente orgânico. Esses autores mostraram que as micropartículas baseadas no PHBV revelaram uma área superficial maior do que aquela verificada para as micropartículas formadas a partir do PLGA, em função da sua rugosidade. Essa característica pode melhorar a posterior biodegradação do material polimérico, o que representa uma vantagem para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada dessa natureza.

É importante salientar que, para todas as micropartículas analisadas, não foram verificados cristais de MethHCl na superfície. LAMPRECHT *et al.* (2000) observaram a presença de cristais na, ou próximo à, superfície das micropartículas, quando trabalharam com fármacos de natureza hidrofóbica.

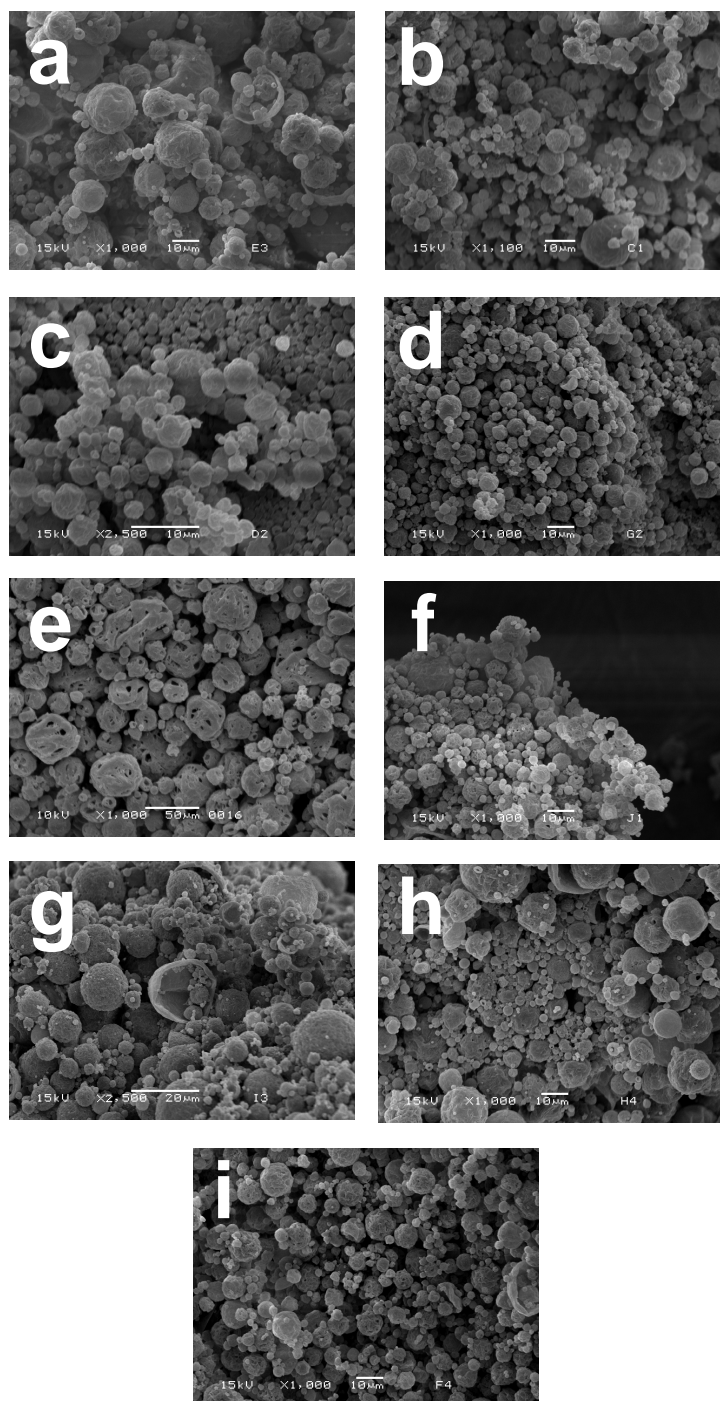


Figura 14 – Aspectos morfológicos, obtidos por MEV, das micropartículas do sistema S1, S1M1 (a), S1M2 (b), S1M3 (c), S1M4 (d), S1M5 (e), S1M6 (f), S1M7 (g), S1M8 (h) e S1M9 (i)

Nas Figuras 15 e 16, estão apresentados os difratogramas referentes ao MetHCl, ao PHBV, à mistura física MetHCl:PHBV (1:99 m/m) e às micropartículas que compõem o sistema S1. Foi observado que os padrões de difração das

micropartículas, baseadas no PHBV e contendo o ativo, foram similares aos verificados quando da análise do polímero de partida (Figura 15 b) e das micropartículas sem a presença do fármaco (formulação S1M4, Figura 16 d).

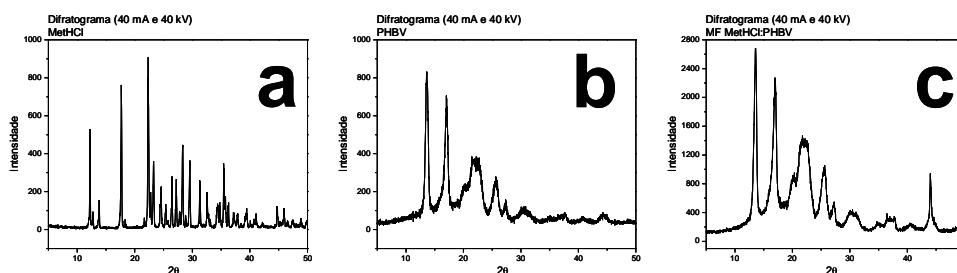


Figura 15 – Difratoogramas do MethHCl (a), do PHBV (b) e da mistura física (MF) binária (MethHCl:PHBV 1:99 m/m) (c)

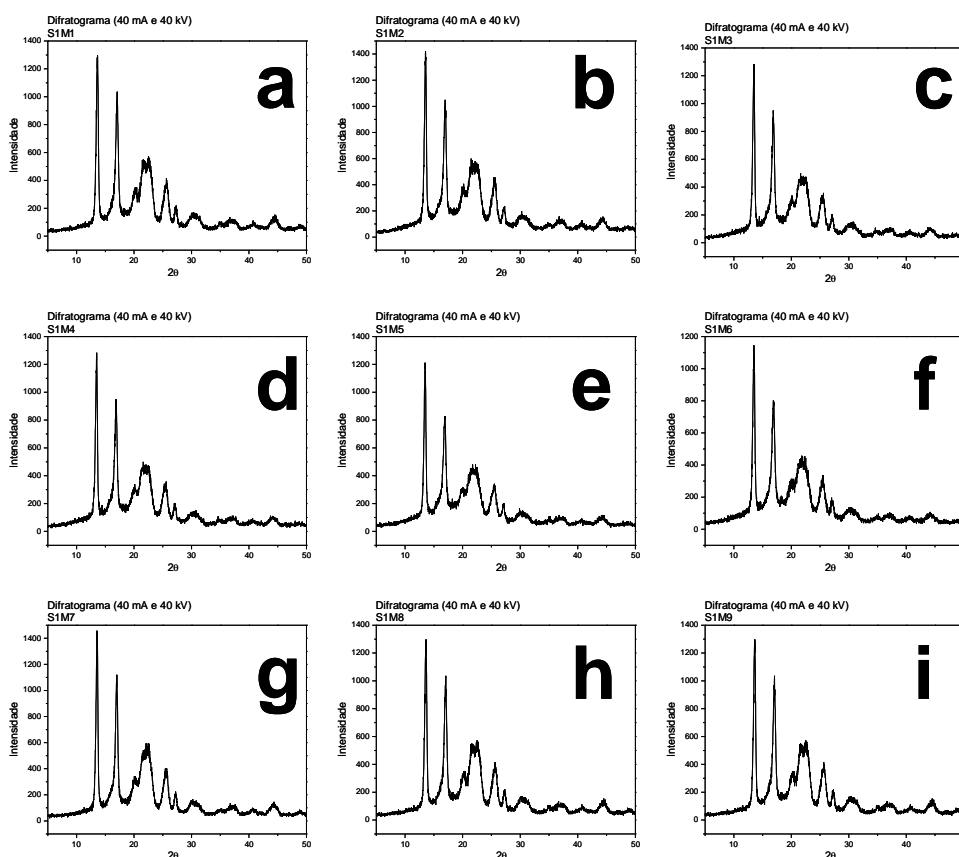


Figura 16 – Difratoogramas das micropartículas que formam o sistema S1, S1M1 (a), S1M2 (b), S1M3 (c), S1M4 (d), S1M5 (e), S1M6 (f), S1M7 (g), S1M8 (h) e S1M9 (i)

Entretanto, as intensidades de difração cristalina para as micropartículas contendo o fármaco foram menores do que as observadas para a mistura física

(Figura 15 c), o que permite inferir que a microencapsulação reduziu a cristalinidade do sistema (fármaco + polímero) e que o MetHCl se encontra, principalmente, disperso no interior das micropartículas de PHBV.

Quando foram quantificados os valores da cristalinidade (%) para o polímero de partida (PHBV) e para as micropartículas do sistema S1 (Tabela 14), informações relevantes foram obtidas. Embora o perfil de cristalinidade das micropartículas não tenha sido diferente do verificado para o polímero de partida, ocorreu uma redução no valor da cristalinidade para as formulações, de forma proporcional ao teor de MetHCl incorporado.

Tabela 14 – Cristalinidade calculada para o PHBV e para as micropartículas do sistema S1, indicando o teor¹ de MetHCl incorporado em cada formulação

Material	MetHCl incorporado (mg.g⁻¹)	Cristalinidade (%)
PHBV	—	56,47
S1M1	17,0 ± 3,7	29,14
S1M2	12,9 ± 2,2	34,34
S1M3	5,5 ± 0,78	40,22
S1M4	—	45,42
S1M5	1,9 ± 0,49	44,36
S1M6	7,7 ± 0,86	37,30
S1M7	6,6 ± 0,93	38,75
S1M8	10,5 ± 0,74	36,75
S1M9	19,5 ± 0,81	27,49

¹ média (n = 3) ± desvio padrão

Para a formulação S1M9, que apresentou a maior eficiência de encapsulação, o valor da cristalinidade foi de 27,49 %, aproximadamente a metade dos 56,47 % calculados para o PHBV puro. Dessa forma, é possível propor que a presença do fármaco dificulta a organização das cadeias poliméricas, tornando os produtos mais amorfos, o que justifica os valores obtidos. Outro aspecto relevante é que, para as micropartículas S1M4 (formulação controle) foi obtido um valor de 45,42 %, indicando que o próprio procedimento de formação dos sistemas microparticulados foi responsável, mesmo que parcialmente, por uma redução na cristalinidade dos materiais.

4.1.6 Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica

Os resultados da análise granulométrica para as micropartículas do sistema S1, obtidos por espectrometria de difração a laser, estão apresentados na Tabela 15 e na Figura 17.

Tabela 15 – Diâmetro médio e *span*¹ (dispersão granulométrica) para as micropartículas do sistema S1, indicando o teor² de MethCl incorporado em cada material

Formulação	MethCl incorporado (mg.g⁻¹)	Diâmetro médio (μm)	Span
S1M1	17,0 ± 3,7	14,22	1,77
S1M2	12,9 ± 2,2	11,17	1,98
S1M3	5,5 ± 0,78	5,46	2,48
S1M4	—	5,45	2,49
S1M5	1,9 ± 0,49	26,24	2,16
S1M6	7,7 ± 0,86	9,40	1,90
S1M7	6,6 ± 0,93	11,33	1,94
S1M8	10,5 ± 0,74	14,25	1,76
S1M9	19,5 ± 0,81	10,21	1,85

¹ calculado a partir do diâmetro das partículas correspondente a 90 %, 10 % e 50 % da distribuição acumulada para cada amostra

² média (n = 3) ± desvio padrão

As micropartículas S1M1, S1M2, S1M6, S1M7, S1M8 e S1M9 mostraram diâmetros médios variando entre 9,40 e 14,25 μm e valores de *span* menores que 2. Os diâmetros médios mais baixos e os valores mais altos de *span* foram verificados para as formulações S1M3 (5,46 μm e 2,48) e S1M4 (5,45 μm e 2,49). Além disso, o diâmetro médio mais alto (26,24 μm) foi observado para o produto S1M5, com um *span* de 2,16. Nesse caso, a migração da acetona para a fase aquosa externa pode ter permitido uma coacervação mais rápida do PHBV presente na fase orgânica do sistema, com a formação de partículas relativamente maiores.

DESAI *et al.* (1996) relataram que sistemas microparticulados possuem potencial aplicação para a administração por via oral, face ao tamanho reduzido que apresentaram. Partículas submicrométricas são internalizadas pelo trato gastrointestinal, sendo que partículas maiores, com tamanho de 1 a 10 μm, são retidas nas microvilosidades dos enterócitos, prolongando seu tempo de trânsito no intestino e facilitando a absorção do fármaco carregado. Dentro desse contexto, é possível destacar a formulação S1M9 (resultante da adição de NaCl e da

alcalinização da fase aquosa externa), com a mais efetiva incorporação do MetHCl ($19,5 \pm 0,81 \text{ mg.g}^{-1}$) e com um diâmetro médio igual a $10,21 \mu\text{m}$.

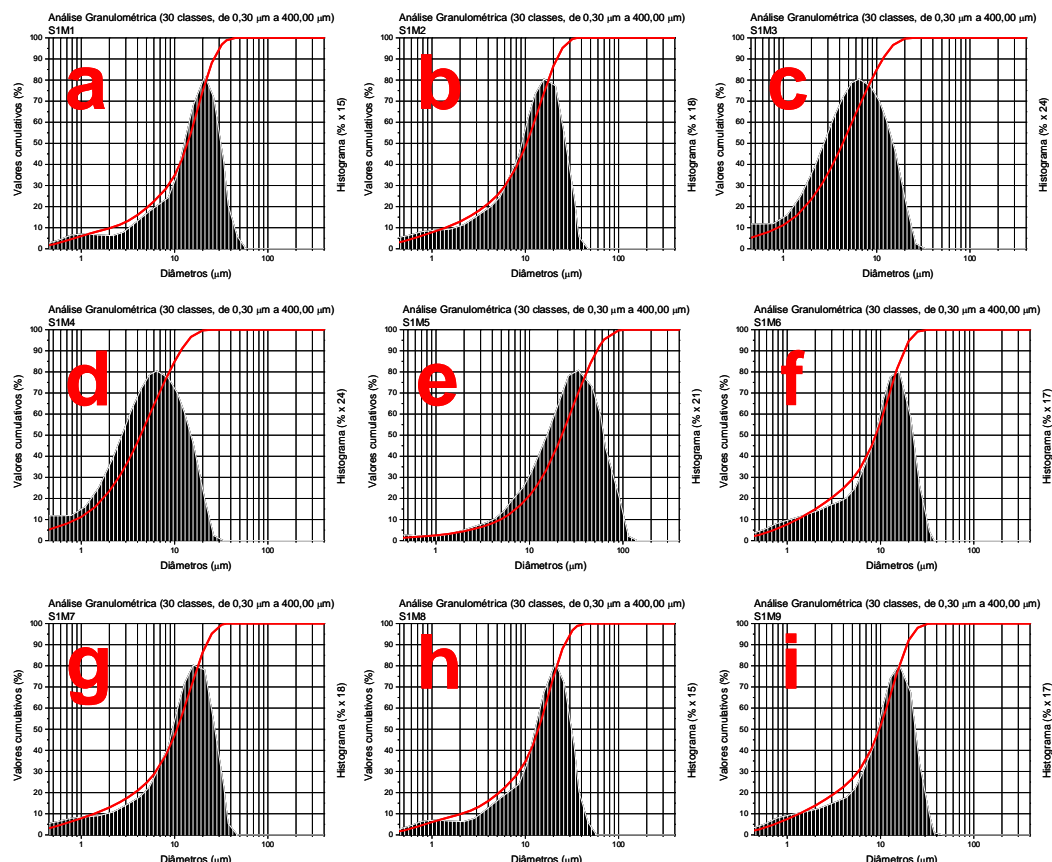


Figura 17 – Distribuição granulométrica obtida para as micropartículas do sistema S1, S1M1 (a), S1M2 (b), S1M3 (c), S1M4 (d), S1M5 (e), S1M6 (f), S1M7 (g), S1M8 (h) e S1M9 (i)

Ainda sobre os valores de *span* (Tabela 15), todos os materiais microparticulados indicaram uma adequada distribuição de tamanho, como relatado para outros sistemas avaliados (ONEDA & RÉ, 2003; DESAI *et al.*, 1996).

4.1.7 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

A análise por IVTF (Figura 18) revelou que não foram observadas diferenças nas posições das bandas de absorção, quando foram comparados os espectros das micropartículas contendo o MetHCl e o espectro obtido para a mistura física. Assim, é possível sugerir que nenhuma ligação química entre o fármaco e o polímero foi estabelecida. Além disso, os espectros das micropartículas contendo o ativo

apresentaram uma maior influência das bandas de absorção do PHBV e uma menor contribuição das bandas de absorção do MetHCl, possivelmente pela maior massa de polímero que compõe os materiais microparticulados.

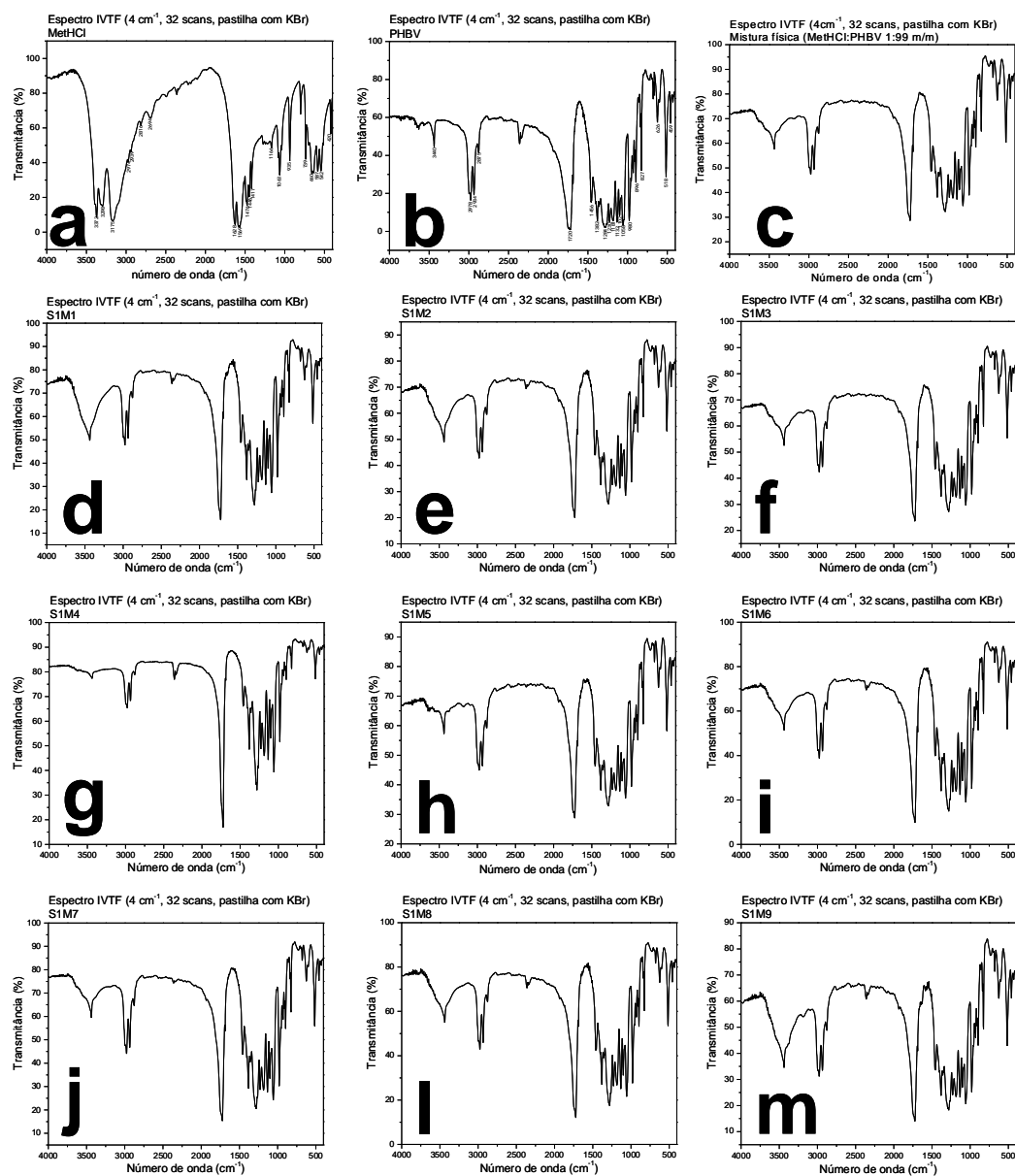


Figura 18 – Espectros IVTF do MetHCl (a), do PHBV (b), da mistura física (MetHCl:PHBV 1:99 m/m) (c) e das micropartículas que formam o sistema S1, S1M1 (d), S1M2 (e), S1M3 (f), S1M4 (g), S1M5 (h), S1M6 (i), S1M7 (j), S1M8 (l) e S1M9 (m)

4.1.8 Análise térmica

Os termogramas do MetHCl, do PHBV, da mistura física (MetHCl:PHBV 1:99 m/m) e das micropartículas S1M4, S1M5 e S1M9, obtidos por CED, estão representados na Figura 19. A partir dos resultados verificados para a formulação S1M5 ($1,9 \pm 0,49 \text{ mg.g}^{-1}$ de MetHCl incorporado e eficiência de encapsulação de 0,95 %), é possível afirmar que, quando ocorreu uma baixa incorporação do fármaco nos sistemas microparticulados, não foi observada uma alteração significativa no perfil dos termogramas, sendo os mesmos comparáveis ao do polímero puro ou ao das micropartículas sem o fármaco (produto S1M4).

Entretanto, para a formulação S1M9 ($19,5 \pm 0,81 \text{ mg.g}^{-1}$ de fármaco incorporado, com eficiência de encapsulação de 9,76 %) foi verificado, durante a primeira varredura, um abaixamento da temperatura de transição vítrea do polímero ($T_g = -6,6 \text{ }^{\circ}\text{C}$), revelando que o polímero se torna menos cristalino e que o MetHCl está em um estado amorfo ou em fase cristalina desordenada, compondo uma dispersão molecular na matriz polimérica de PHBV. O evento térmico de fusão (T_m), para as micropartículas designadas como S1M9, ocorreu em um valor inferior ao observado para os demais materiais ensaiados, fato esse resultante da degradação do sistema com menor fluxo de calor.

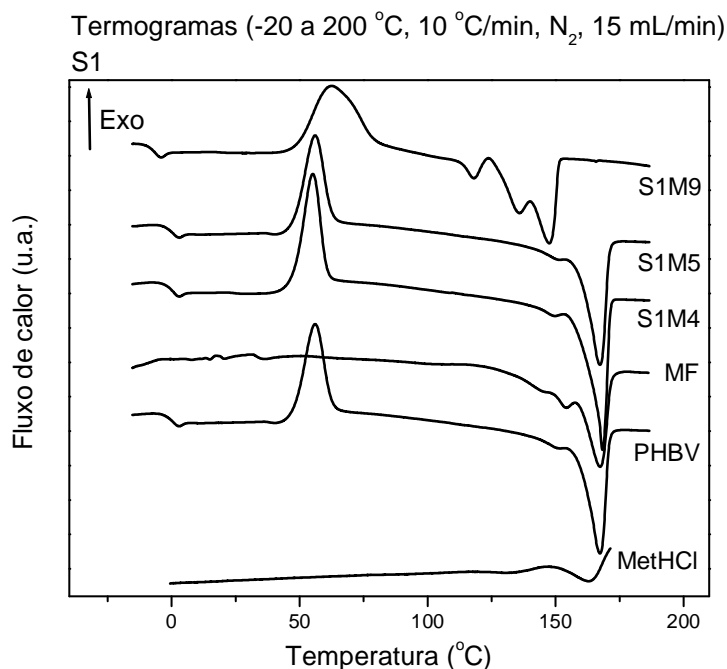


Figura 19 – Termogramas obtidos por CED para o MetHCl, PHBV, mistura física (MetHCl:PHBV 1:99 m/m) e micropartículas S1M4, S1M5 e S1M9

Com relação às curvas de ATG (Figura 20), foi constatado que a incorporação do fármaco promoveu a degradação térmica do material polimérico em temperaturas mais baixas, de forma proporcional ao teor de ativo incorporado. Esse resultado sugere que o MetHCl é responsável por tornar a estrutura polimérica mais flexível, como um plastificante, o que corrobora com os resultados prévios obtidos por CED.

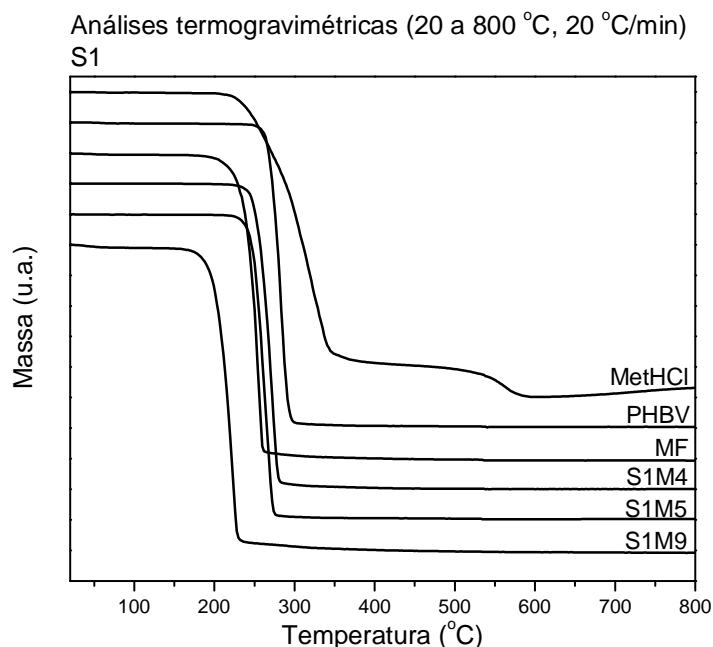


Figura 20 – Curvas de ATG do MetHCl, do PHBV, da mistura física (MetHCl:PHBV 1:99 m/m) e das micropartículas S1M4, S1M5 e S1M9

4.1.9 Estudo de liberação *in vitro*

O experimento de liberação *in vitro* foi realizado para as micropartículas S1M9, devido ao maior valor de eficiência de encapsulação (9,76 %), e comparado com o perfil de liberação do fármaco puro. Por meio do sistema de células de fluxo, o MetHCl puro apresentou dissolução de $88,08 \pm 3,21$ % após 60 min e $99,84 \pm 0,07$ % após 120 min. As micropartículas S1M9 revelaram valores de dissolução do MetHCl de $69,90 \pm 2,94$ % e $93,98 \pm 1,96$ %, respectivamente após 60 e 120 min (Figura 21). Para o sistema microparticulado, 99,02 \pm 0,43 % de dissolução do ativo foi observado em 150 min.

Considerando os resultados obtidos durante o estágio ácido de dissolução, foram verificados valores para a eficiência de dissolução de 77 ± 4 % (MetHCl puro)

e de 63 ± 2 % (micropartículas S1M9). Por meio da análise de variância (ANOVA), foi constatado que o valor da variância dentro dos grupos (MQG = 36,96) foi menor que o valor da variância das médias (MQR = 305,02), indicando que existe uma significância entre os valores de eficiência de dissolução avaliados. Além disso, o valor do f calculado (33,01) foi maior do que o f tabelado (7,71), com $p = 0,0045$, comprovando que há diferença significativa, ao nível de significância de 5 %, entre a eficiência de dissolução do MetHCl puro e a eficiência de dissolução das micropartículas S1M9.

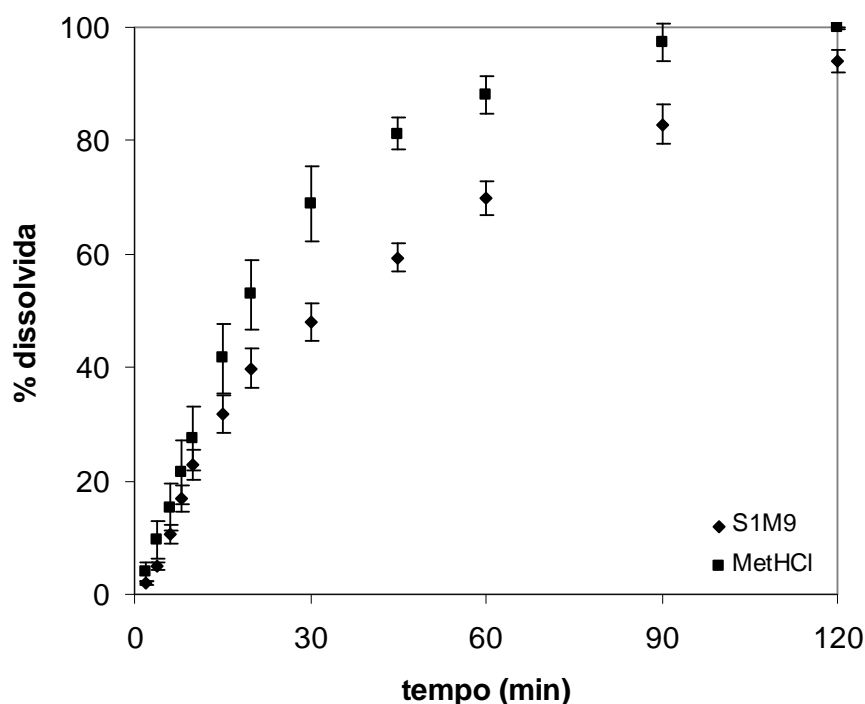


Figura 21 – Perfis de liberação *in vitro* do fármaco MetHCl e das micropartículas S1M9 em fluido gástrico simulado (HCl 0,1 mol.L⁻¹), empregando o sistema de células de fluxo

Os modelos matemáticos foram aplicados aos perfis de liberação do fármaco puro e das micropartículas S1M9, empregando o software *MicroMath Scientist*®. A seleção do melhor modelo foi realizada, considerando os resultados obtidos para o coeficiente de correlação (r) e para o critério de seleção do modelo (MSC). Ainda assim, foi analisada a coerência dos valores encontrados para as constantes cinéticas de liberação e o ajuste gráfico verificado.

Para o MetHCl puro, o modelo monoexponencial (Figura 22 a) ajustou melhor os dados de dissolução ($r = 0,999$ e $MSC = 5,05$) que os demais modelos avaliados. O valor da constante cinética calculada para a liberação do fármaco no meio de dissolução HCl 0,1 mol.L⁻¹ foi de $k = 0,0355 \text{ min}^{-1}$. Assim, a modelagem matemática para o perfil de liberação do MetHCl não indicou nenhuma fase de sustentação durante o período de dissolução, indicando a liberação imediata do ativo.

Para as micropartículas S1M9 (Figura 22 b), o melhor ajuste foi baseado na equação biexponencial ($r = 0,998$, $MSC = 4,88$). As constantes cinéticas de liberação foram $\alpha = 0,1545 \text{ min}^{-1}$ e $\beta = 0,0192 \text{ min}^{-1}$. Com isso, os resultados apresentados para as micropartículas S1M9 demonstram a influência do polímero PHBV na modificação do perfil de liberação do ativo, frente aos resultados evidenciados para o fármaco puro.

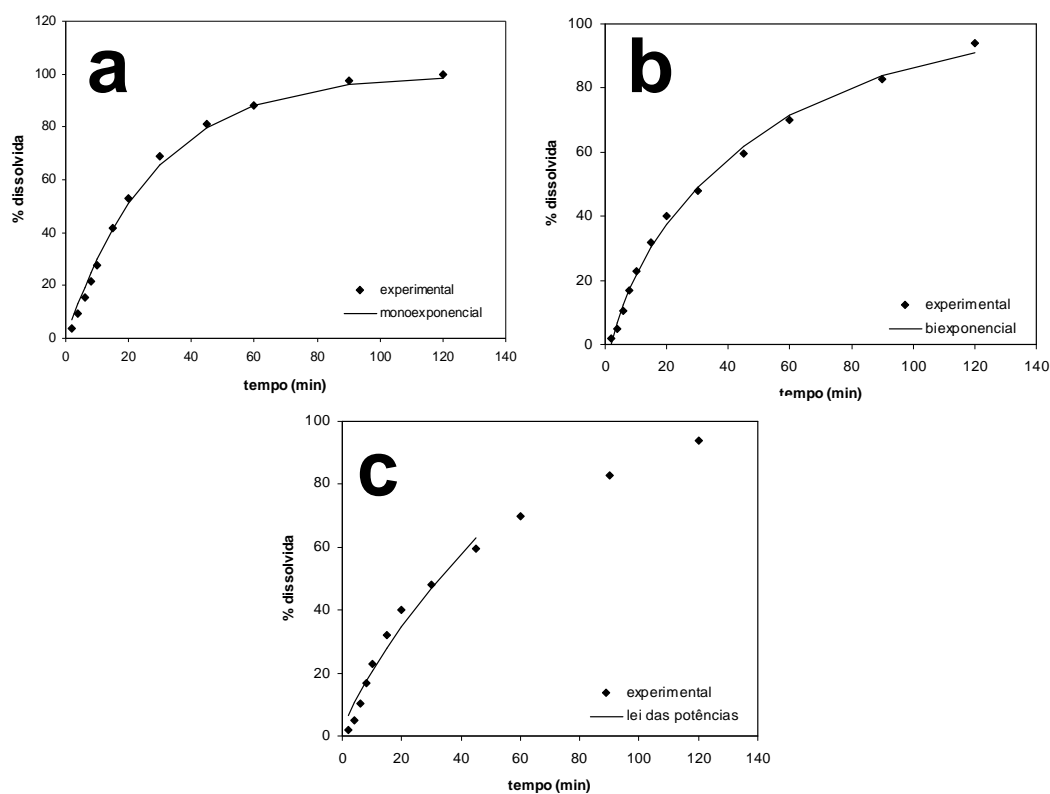


Figura 22 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para o MetHCl puro e para as micropartículas S1M9, com base na modelagem matemática a partir dos perfis de liberação *in vitro*; modelagem matemática da equação monoexponencial para o MetHCl puro (a); modelagem matemática da equação biexponencial para as micropartículas S1M9 (b); modelagem matemática da equação de Korsmeyer-Peppas para as micropartículas S1M9 (c)

A modelagem matemática efetuada para o perfil de liberação das micropartículas S1M9, segundo o modelo de Korsmeyer-Peppas (lei das potências) (Figura 22 c), revelou um valor de n igual a 0,82. Um valor de n entre 0,43 e 0,85, para partículas esféricas, indica que o mecanismo de liberação do fármaco é governado por um transporte anômalo (SIEPMANN & PEPPAS, 2001). Dessa forma, o mecanismo de liberação está relacionado à sobreposição dos eventos de difusão Fickiana do MetHCl a partir do sistema polimérico microparticulado, concomitante à entrada do fronte de solvente na estrutura das micropartículas.

Diante dos resultados apresentados e discutidos, que mostraram uma adequada formação das micropartículas de PHBV, permitindo a modificação do perfil de liberação do ativo, mas com baixos teores de incorporação do MetHCl, variando entre $19,5 \pm 0,81$ e $1,9 \pm 0,49$ mg.g⁻¹, outras estratégias foram implementadas, com o objetivo de obter sistemas microestruturados com maior eficiência de encapsulação do fármaco em estudo.

4.2 SISTEMA S2: MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLORIDRATO DE METFORMINA, OBTIDAS PELO MÉTODO DE EMULSÃO EM MEIO NÃO AQUOSO E EVAPORAÇÃO DO SOLVENTE ORGÂNICO, A PARTIR DE POLÍMEROS (MET)ACRÍLICOS E/OU CELULÓSICO

Considerando a limitação de solubilidade do PHBV, polímero empregado no sistema S1, avaliando a impossibilidade de empregar a água como fase externa para a coacervação do polímero e, principalmente, a necessidade de obter elevados teores de encapsulação do MetHCl nos sistemas microparticulados, foi verificada a existência, na literatura, do método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico (PATEL, RAY & THAKUR, 2006; RAFFIN *et al.*, 2006a; MATEOVIĆ-ROJNIK *et al.*, 2005; JALIL & NIXON, 1990a; JALIL & NIXON, 1990b; DEASY, 1984).

Nesse método, o fármaco e o polímero são usualmente dissolvidos em acetona para formar a fase orgânica polar. Em seguida, essa fase é emulsionada em vaselina líquida (fase orgânica apolar) que, em presença de tensoativo(s) não iônico(s), como o monooleato de sorbitano (Span[®] 80), sob agitação mecânica, compõe a emulsão não aquosa. Assim, após a evaporação do solvente orgânico

mais polar, há a formação das micropartículas, reduzindo a migração do fármaco para a fase externa.

No caso do MetHCl, após verificar que sua solubilidade é restrita em acetona, foi proposta a modificação do método, com a utilização de metanol como solvente orgânico polar, no qual a massa de fármaco usada apresentou adequada solubilidade. Além disso, o metanol possui baixo ponto de ebulição, cerca de 64 °C (MERCK, 2001), o que ocasiona uma remoção do solvente relativamente fácil.

Assim, micropartículas contendo o ativo, desenvolvidas a partir de diferentes polímeros (met)acrílicos e/ou celulósico, foram obtidas através da técnica da emulsão em meio não aquoso, seguida da evaporação do solvente orgânico polar.

4.2.1 Rendimento e eficiência de encapsulação

As micropartículas apresentaram-se como pós brancos ou quase brancos. Os valores calculados para o rendimento, teor de incorporação e eficiência de encapsulação do MetHCl nas micropartículas do sistema S2 estão sumarizados na Tabela 16.

Tabela 16 – Rendimento¹, teor de incorporação^{1,3} e eficiência de encapsulação^{2,3} obtidos para as formulações do sistema S2, a partir do método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico

Formulação	Rendimento (%)	MetHCl incor- porado (mg.g⁻¹)	Eficiência de encapsulação (%)
S2M1	87,6 ± 1,4	97,8 ± 0,73	97,8
S2M2	85,9 ± 2,4	96,3 ± 0,50	96,3
S2M3	80,4 ± 3,1	97,4 ± 3,99	97,4
S2M4	85,1 ± 1,8	99,0 ± 1,07	99,0
S2M5	91,1 ± 0,6	96,3 ± 0,64	96,3
S2M6	85,0 ± 1,1	—	—
S2M7	83,8 ± 1,6	—	—
S2M8	81,2 ± 2,2	—	—
S2M9	84,9 ± 1,7	—	—
S2M10	89,7 ± 0,9	—	—

¹ média (n = 3) ± desvio padrão

² média (n = 3)

³ método analítico para a quantificação do MetHCl devidamente validado e discutido no sistema S3, conforme mencionado no item 3.3.3.1

O método proposto conduziu à preparação de micropartículas com rendimento variando entre $80,4 \pm 3,1$ % (formulação S2M3) e $91,1 \pm 0,6$ % (formulação S2M5). Os materiais revelaram valores para o fármaco incorporado próximos ao valor teórico de 100 mg.g^{-1} , com eficiência de encapsulação na faixa de 96,3 % (formulações S2M2 e S2M5) até 99,0 % (formulação S2M4).

PATEL, RAY & THAKUR (2006), ao desenvolverem micropartículas de etilcelulose pelo processo de emulsão não aquosa e evaporação do solvente, contendo o fármaco MetHCl, verificaram valores de rendimento variando entre 58 e 87 % e eficiência de incorporação na faixa de 61 a 134 %. Assim, os resultados obtidos no presente estudo, analisados em termos de rendimento e eficiência de incorporação, apresentaram uma faixa de variação mais estreita. Entretanto, esse fato pode estar relacionado às diversas variações na proporção fármaco:polímero ensaiadas por PATEL, RAY & THAKUR (2006), enquanto que, no presente estudo, esse parâmetro foi mantido constante. Assim, os resultados da eficiência de encapsulação do ativo nas micropartículas do sistema S2 são muito promissores, considerando a possibilidade desses materiais serem utilizados na elaboração de formas farmacêuticas de liberação controlada para o MetHCl.

4.2.2 Determinação do teor de umidade

Para as micropartículas que formam o sistema S2, foram verificados teores de umidade variando entre $1,16 \pm 0,23$ % (formulação S2M3) e $3,38 \pm 0,22$ % (formulação S2M10), como indicado na Tabela 17.

Tabela 17 – Teor de água¹ verificado para o MetHCl e para as micropartículas do sistema S2

Material	Umidade (%)
MetHCl	$0,84 \pm 0,13$
S2M1	$2,27 \pm 0,21$
S2M2	$2,19 \pm 0,28$
S2M3	$1,16 \pm 0,23$
S2M4	$2,92 \pm 0,17$
S2M5	$3,34 \pm 0,24$
S2M6	$2,03 \pm 0,19$
S2M7	$2,15 \pm 0,16$
S2M8	$1,35 \pm 0,20$
S2M9	$2,74 \pm 0,25$
S2M10	$3,38 \pm 0,22$

¹ média (n = 3) \pm desvio padrão

Analisando os resultados, é possível observar que as micropartículas formuladas na presença do MetHCl apresentam teores de umidade próximos aos obtidos para os produtos elaborados na ausência do fármaco. Dessa forma, a incorporação do MetHCl puro, com teor de água de $0,84 \pm 0,13$ % (Tabela 17) não representou uma influência considerável na umidade dos materiais avaliados.

RAFFIN *et al.* (2006a), quando da preparação de micropartículas de Eudragit® S 100 contendo pantoprazol sódico sesquiidratado pelo mesmo método, mostrou que as micropartículas contendo o fármaco revelaram um conteúdo de água de 6,89 %, enquanto que o pantoprazol sódico sesquiidratado puro apresentou um teor de umidade de 6,59 %.

4.2.3 Análises morfológicas e de superfície

As imagens obtidas por MEV (Figura 23) revelaram, em geral, partículas esféricas ou quase esféricas, formando agregados. Para a formulação S2M4 (Figura 23 d), o produto apresentou uma característica amorfa, resultante da fusão e sobreposição dos diferentes materiais constituintes, não sendo perceptível a diferenciação das estruturas esféricas ou quase esféricas evidenciadas para as demais micropartículas contendo o MetHCl. Esse mesmo fato foi também constatado para o produto S2M9 (formulação controle). Não foi verificada a presença de cristais do MetHCl na região superficial dos materiais de S1M1 a S1M5.

A literatura (DEASY, 1984) destaca, como característica do método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente, a tendência de agregação das partículas, resultando em aglomerados de maior tamanho. Uma alternativa para evitar esse fato, segundo o mesmo autor, é promover a ressuspensão das micropartículas utilizando hidrocarbonetos alifáticos, como pentano, hexano, heptano ou octano. Contudo, considerando que o interesse está voltado à modulação da liberação do ativo pelo sistema polimérico, a agregação das partículas pode fornecer resultados interessantes do ponto de vista biofarmacêutico, pois possibilita a redução da área superficial com o meio de dissolução.

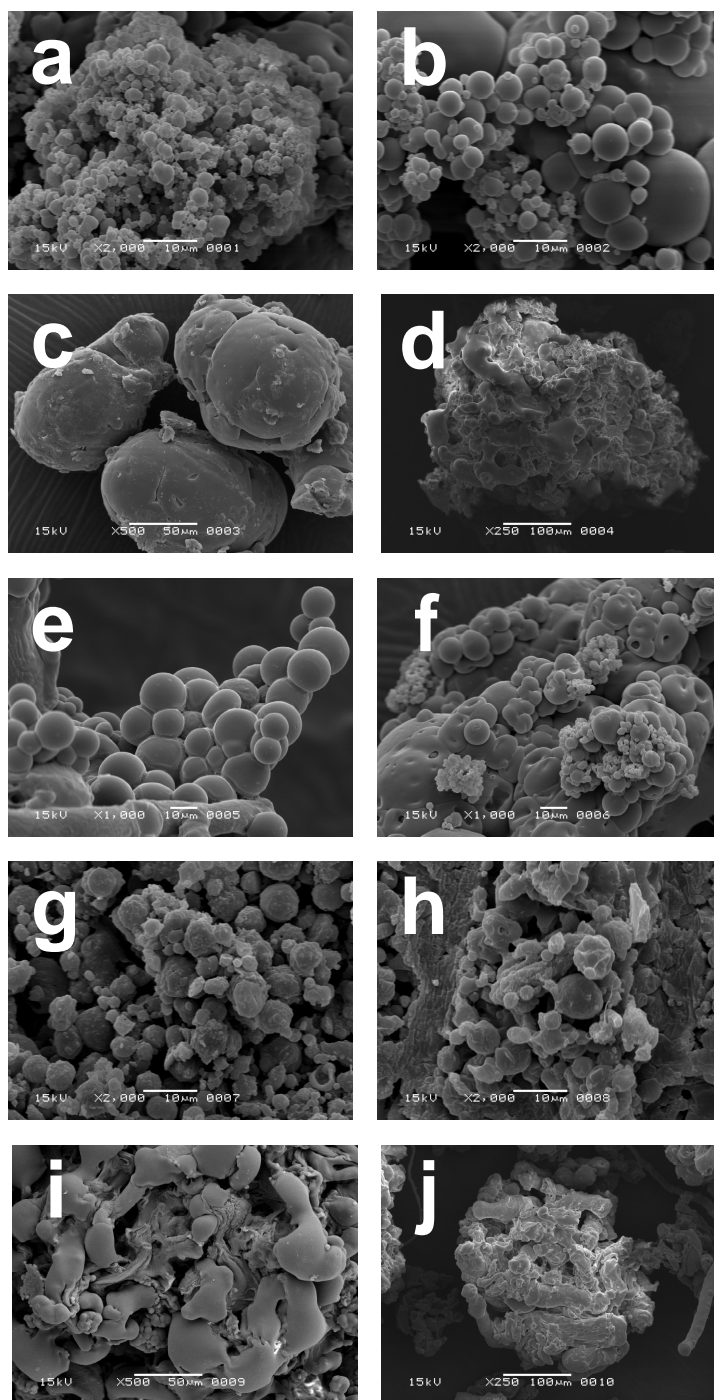


Figura 23 – Aspectos morfológicos das micropartículas do sistema S2, visualizados por MEV, S2M1 (a), S2M2 (b), S2M3 (c), S2M4 (d), S2M5 (e), S2M6 (f), S2M7 (g), S2M8 (h), S2M9 (i) e S2M10 (j)

Com relação à análise por difração de raio-X (Figuras 24 a 28), foi verificado que os difratogramas das micropartículas, preparadas na presença e na ausência do

fármaco, indicaram perfis semelhantes aos obtidos para os polímeros de partida. Para as micropartículas S2M1 (Figura 24), S2M2 (Figura 25), S2M4 (Figura 27) e S2M5 (Figura 28), as intensidades de difração cristalina foram menores do que aquelas observadas para as respectivas misturas físicas, não sendo possível visualizar os picos característicos de cristalinidade do MetHCl. Esses resultados sugerem que método de microencapsulação foi responsável por reduzir a cristalinidade do fármaco e que o mesmo pode estar em dispersão molecular no interior das micropartículas ou na superfície do material polimérico, apresentando estado amorfo.

Entretanto, no difratograma da formulação S2M3 (Figura 26), foram observados alguns picos de cristalinidade atribuídos ao MetHCl, quando comparado com a mistura física. Esse fato pode ser justificado pela presença de domínios do ativo na partícula. Dessa forma, o fármaco retido no material, mantendo a sua estrutura cristalina, contribui para a cristalinidade do material final.

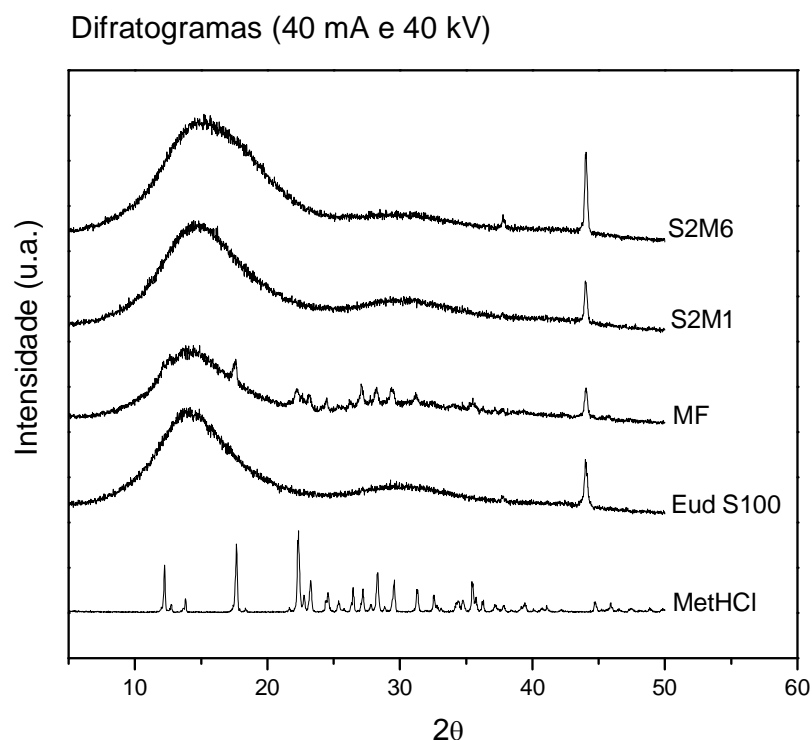


Figura 24 – Difratogramas do MetHCl, do polímero de partida Eud S100, da mistura física (MetHCl:Eud S100, 1:9 m/m) e das micropartículas S2M1 e S2M6 que integram o sistema S2

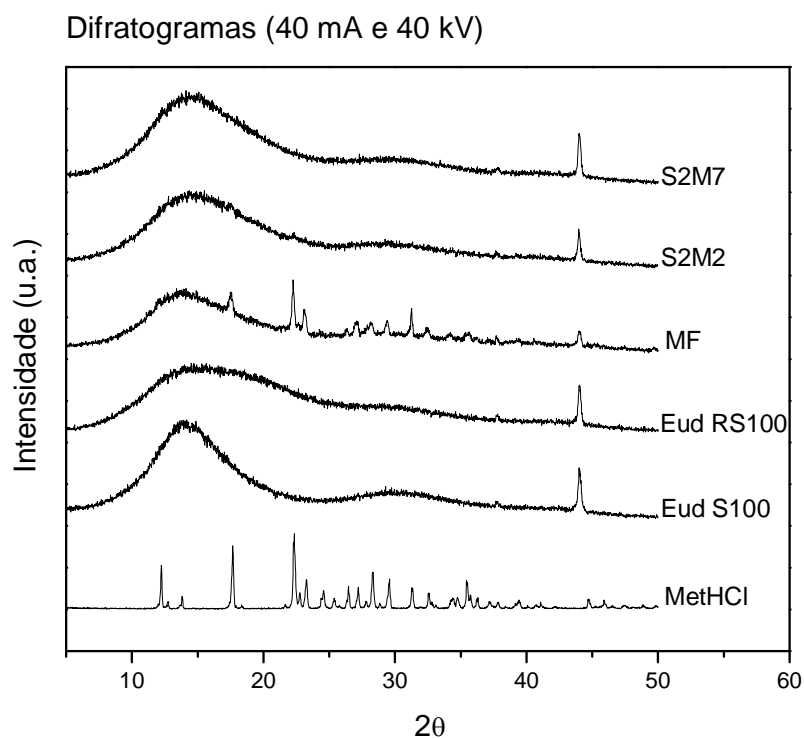


Figura 25 – Difratogramas do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Eud RS100, da mistura física (MetHCl:Eud S100:Eud RS100, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S2M2 e S2M7 que compõem o sistema S2

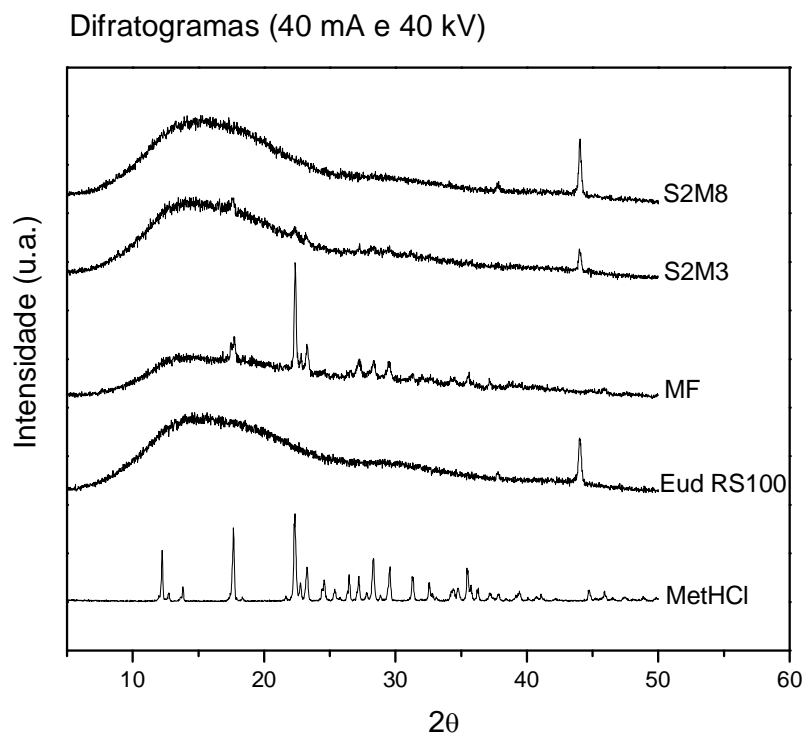


Figura 26 – Difratogramas do MetHCl, do polímero de partida Eud RS100, da mistura física (MetHCl:Eud RS100, 1:9 m/m) e das micropartículas S2M3 e S2M8 que formam o sistema S2

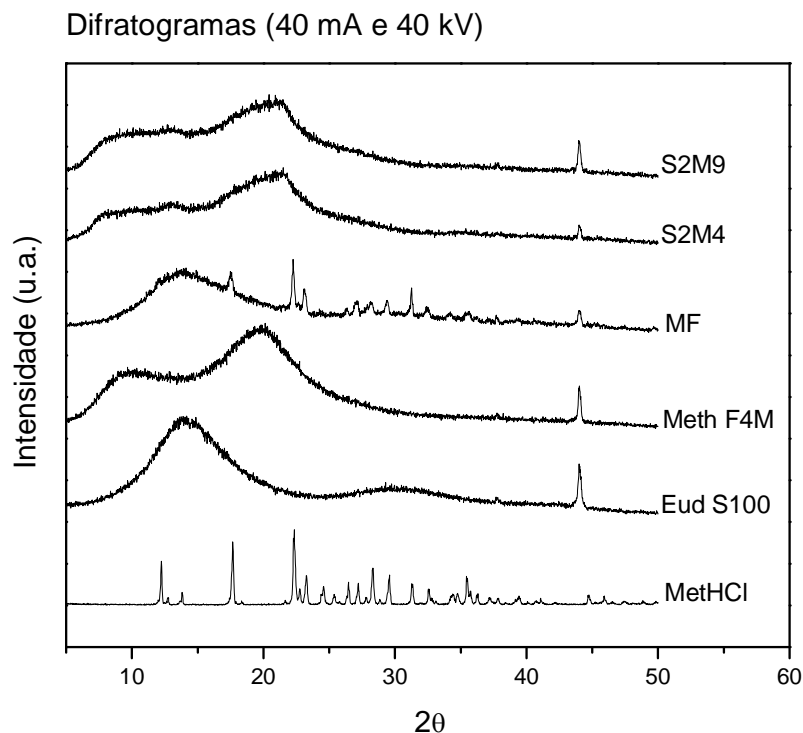


Figura 27 – Difratogramas do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Meth F4M, da mistura física (MetHCl:Eud S100:Meth F4M, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S2M4 e S2M9 que constituem sistema S2

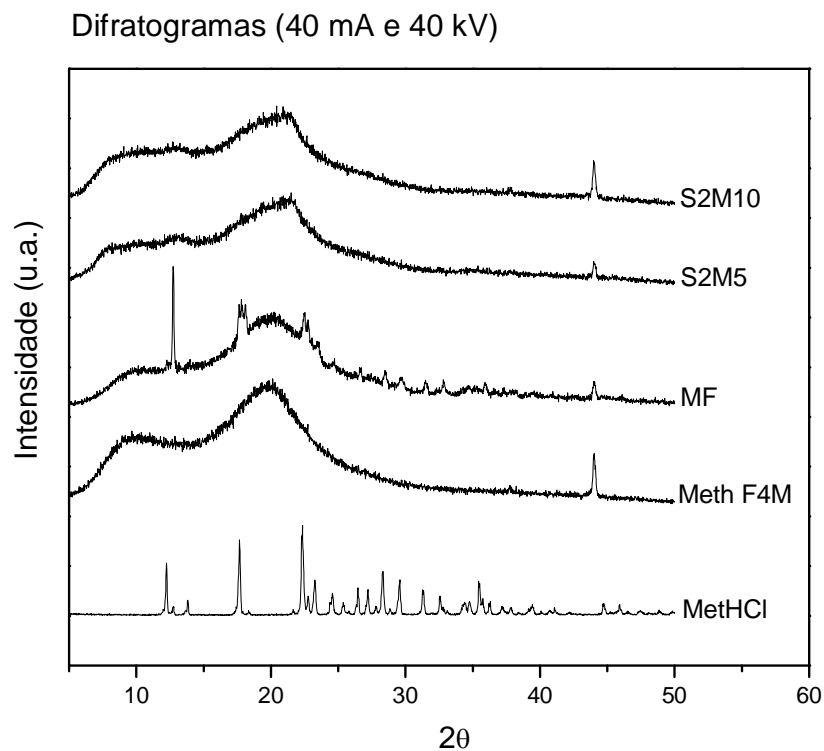


Figura 28 – Difratogramas do MetHCl, do polímero de partida Meth F4M, da mistura física (MetHCl: Meth F4M, 1:9 m/m) e das micropartículas S2M5 e S2M10 que fazem parte do sistema S2

Conforme FREIBERG & ZHU (2004) e YUKSEL, TINCER & BAYKARA (1996), a presença de domínios na estrutura das micropartículas pode ser resultante de uma limitação na interação entre o fármaco e o polímero, o que pode resultar em uma modificação na liberação do ativo a partir dos sistemas microparticulados.

4.2.4 Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica

A Tabela 18 e a Figura 29 resumizam as informações referentes ao diâmetro médio e à distribuição de tamanho para os materiais que compõem o sistema S2. Os produtos revelaram diâmetros médios variando entre 53,60 μm (formulação S2M8) e 209,33 μm (formulação S2M4). Os valores de *span*, em geral, foram menores do que 2, o que representa uma estreita dispersão, em função da proximidade dos dados em torno da média.

Tabela 18 – Diâmetro médio e *span*¹ (dispersão granulométrica) para as micropartículas do sistema S2, indicando o teor² de MetHCl incorporado em cada material

Formulação	MetHCl incorporado (mg.g^{-1})	Diâmetro médio (μm)	Span
S2M1	97,8 \pm 0,73	155,66	1,69
S2M2	96,3 \pm 0,50	82,21	1,70
S2M3	97,4 \pm 3,99	115,52	1,81
S2M4	99,0 \pm 1,07	209,33	1,27
S2M5	96,3 \pm 0,64	181,05	1,67
S2M6	—	149,36	1,34
S2M7	—	124,97	1,69
S2M8	—	53,60	3,02
S2M9	—	180,04	1,65
S2M10	—	207,56	1,30

¹ calculado a partir do diâmetro das partículas correspondente a 90 %, 10 % e 50 % da distribuição acumulada para cada amostra

² média ($n = 3$) \pm desvio padrão

Entretanto, para a formulação S2M8 foi calculado um *span* de 3,02 (Tabela 18), o que indica que o produto possui maior dispersão de tamanho do que os outros materiais que integram o sistema S2, característica que pode também ser visualizada na Figura 29 (h). Esse fato pode ser justificado pela existência concomitante de materiais agregados e de micropartículas isoladas, que formam duas populações com tamanhos relativamente diferentes.

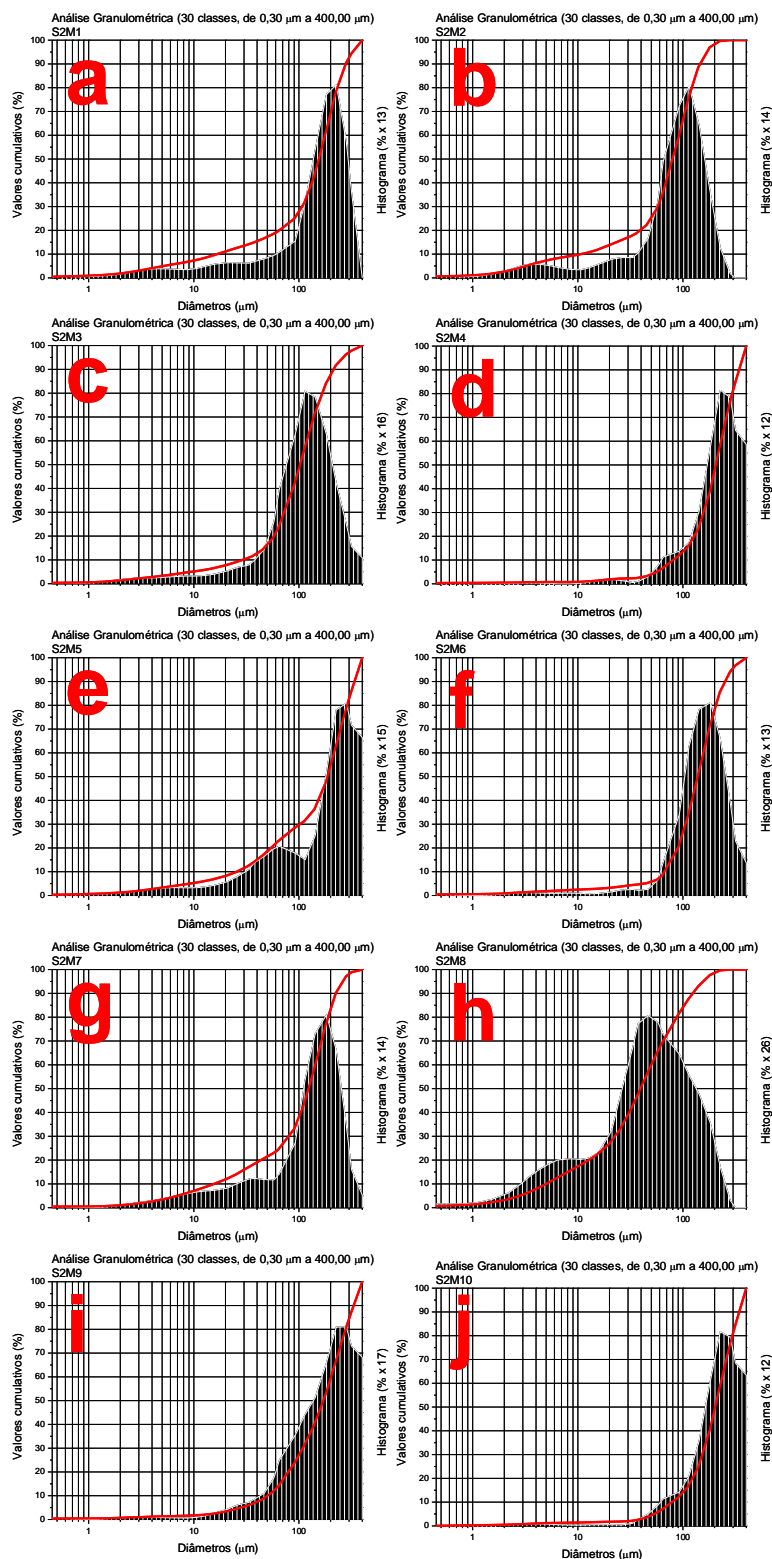


Figura 29 – Distribuição granulométrica obtida para as micropartículas do sistema S2, S2M1 (a), S2M2 (b), S2M3 (c), S2M4 (d), S2M5 (e), S2M6 (f), S2M7 (g), S2M8 (h), S2M9 (i) e S2M10 (j)

Esses resultados estão de acordo com as observações feitas por MEV, nas quais as partículas foram visualizadas como grandes agregados, decorrentes do processo de emulsão não aquosa e evaporação do solvente utilizado para a preparação desses materiais.

4.2.5 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

Sobre os espectros de IVTF do sistema S2 (Figuras 30 a 34), nenhuma diferença nas posições das bandas de absorção foi observada entre os espectros das formulações contendo o MetHCl e os respectivos espectros das misturas físicas. Esse fato sugere que nenhuma ligação química entre o fármaco e o(s) polímero(s) de partida foi estabelecida. Além disso, os espectros das micropartículas contendo o ativo mostraram, como para o sistema S1, uma maior influência das bandas de absorção do(s) material(is) polimérico(s) de partida, com uma pequena contribuição das bandas do ativo, o que pode estar relacionado à concentração do fármaco presente nesses materiais.

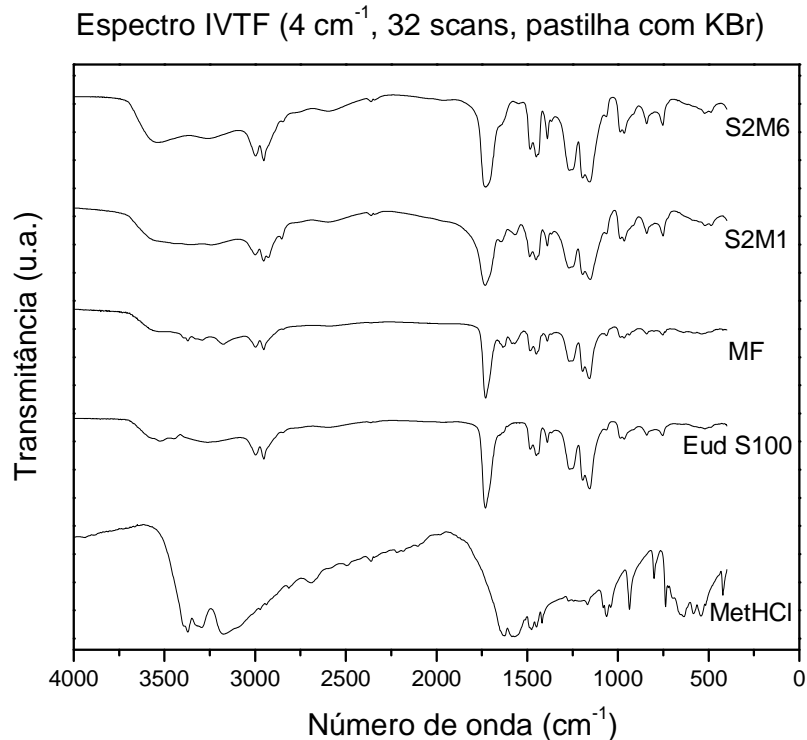


Figura 30 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Eud S100, da mistura física (MetHCl:Eud S100, 1:9 m/m) e das micropartículas S2M1 e S2M6 que integram o sistema S2

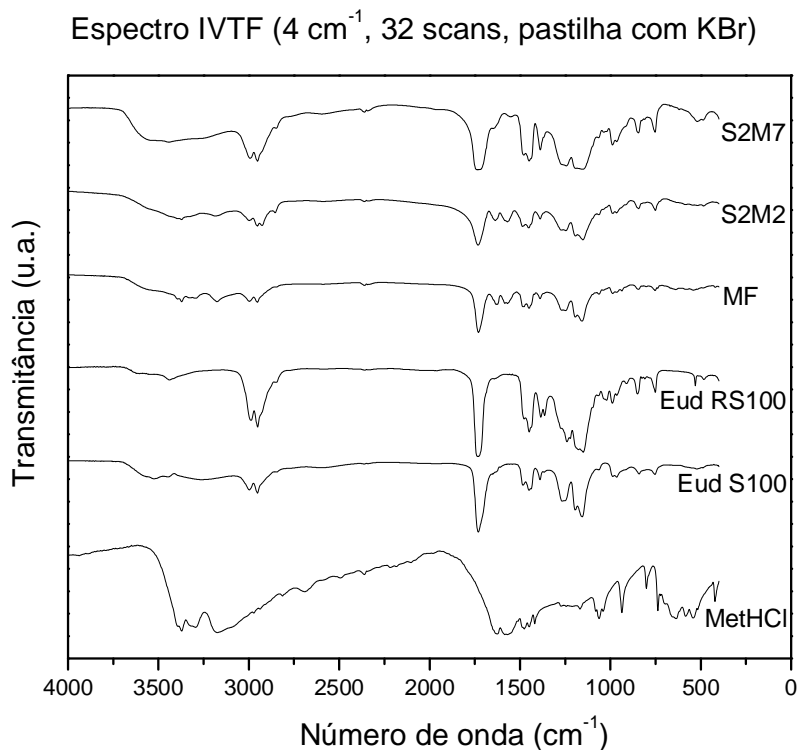


Figura 31 – Espectros IVTF do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Eud RS100, da mistura física (MetHCl:Eud S100:Eud RS100, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S2M2 e S2M7 que compõem o sistema S2

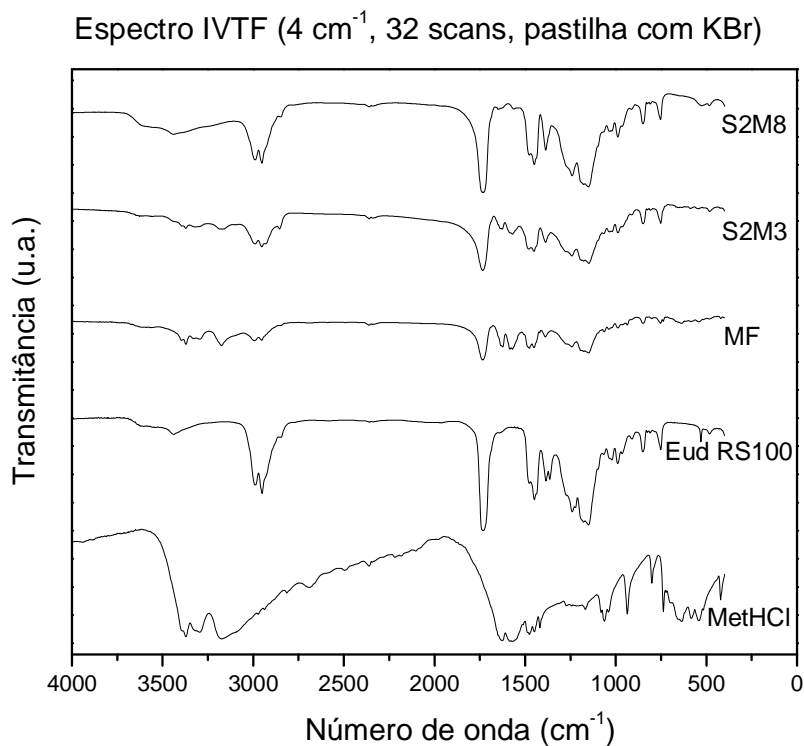


Figura 32 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Eud RS100, da mistura física (MetHCl:Eud RS100, 1:9 m/m) e das micropartículas S2M3 e S2M8 que formam o sistema S2

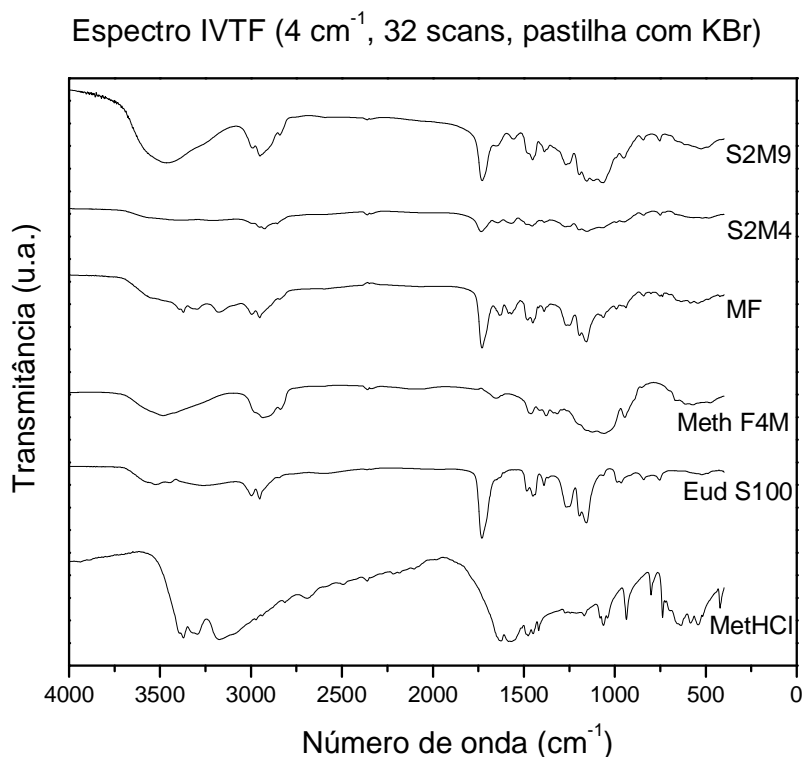


Figura 33 – Espectros IVTF do MethHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Meth F4M, da mistura física (MethHCl:Eud S100:Meth F4M, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S2M4 e S2M9 que constituem sistema S2

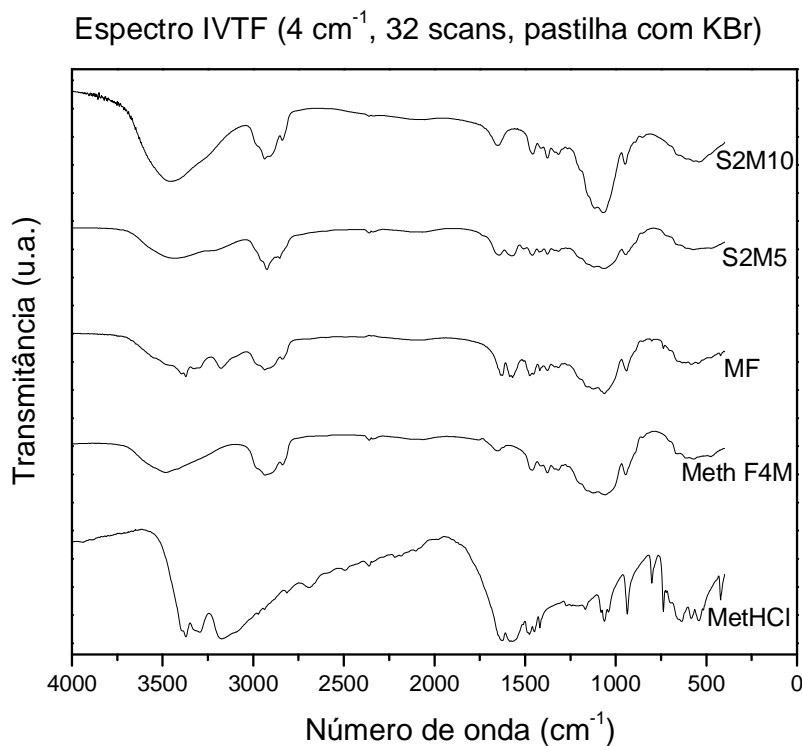


Figura 34 – Espectros IVTF do MethHCl, do polímero de partida Meth F4M, da mistura física (MethHCl: Meth F4M, 1:9 m/m) e das micropartículas S2M5 e S2M10 que fazem parte do sistema S2

4.2.6 Estudo de liberação *in vitro*

Empregando o sistema de células de fluxo, foram obtidos os perfis de liberação para as formulações do sistema S2 e comparados com o perfil de dissolução do MetHCl puro, conforme compilado na Figura 35.

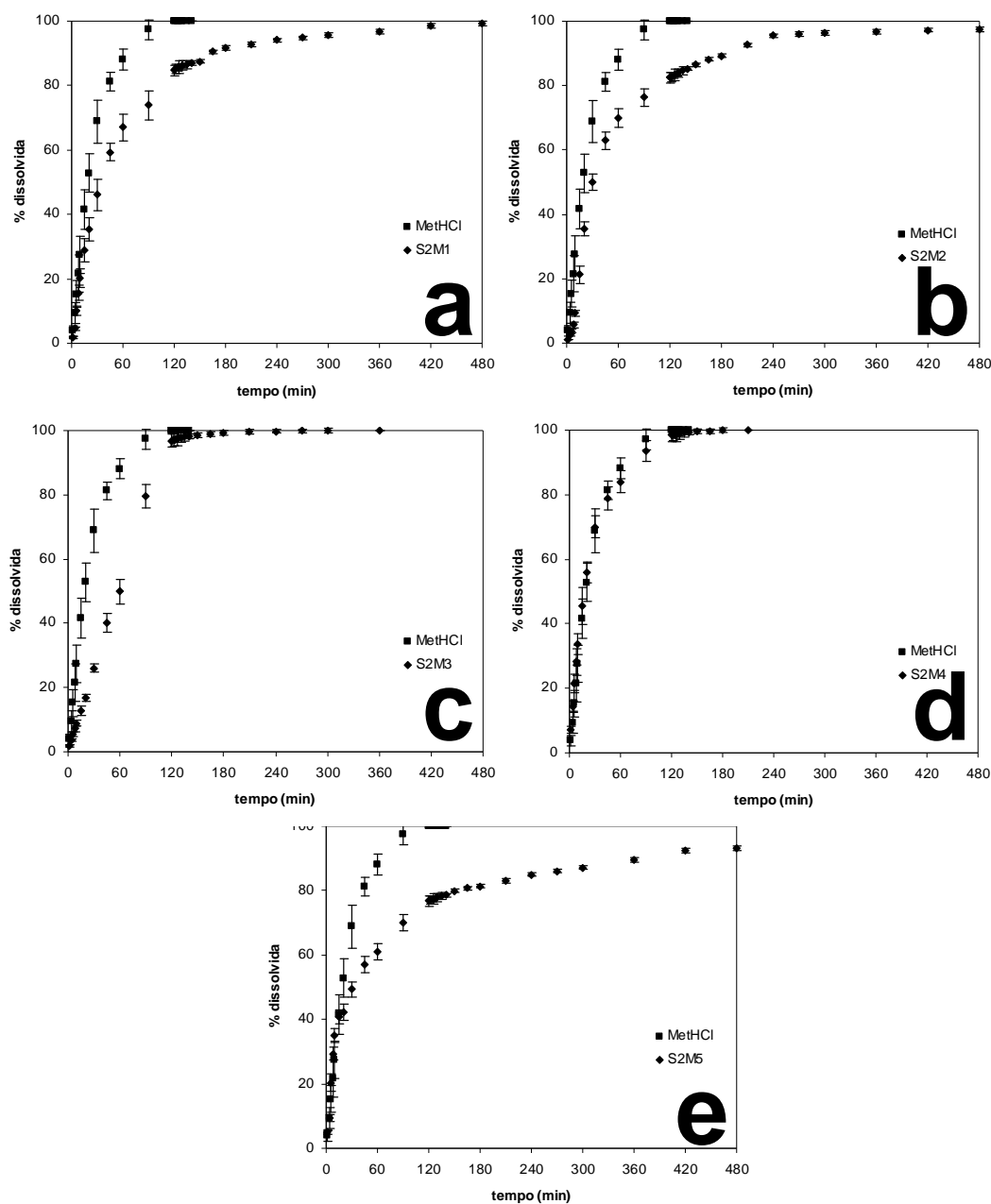


Figura 35 – Comparação entre o perfil de liberação *in vitro* do fármaco MetHCl e dos materiais S2M1 (a), S2M2 (b), S2M3 (c), S2M4 (d) e S2M5 (e) em fluido gástrico simulado (HCl 0,1 mol.L⁻¹) e em tampão fosfato (pH 7,4), através do sistema de células de fluxo

Transcorridos 120 min de liberação *in vitro*, o fármaco puro revelou uma porcentagem de dissolução de $99,84 \pm 0,07$ %. Valores de dissolução de $84,69 \pm 1,76$ %, $82,44 \pm 1,72$ %, $96,85 \pm 2,02$ %, $98,45 \pm 2,05$ % e $76,78 \pm 1,60$ % foram verificados após 120 min para os produtos S2M1, S2M2, S2M3, S2M4 e S2M5, respectivamente. Para a formulação S2M5, 93,02 \pm 0,66 % de dissolução do ativo foi observado em 480 min, tempo final de coleta estabelecido para o experimento.

Considerando os resultados obtidos durante o estágio ácido de dissolução (Figura 36), foram calculados os valores de eficiência de dissolução de 77 ± 4 % (MetHCl puro), de 58 ± 3 % (S2M1), de 59 ± 2 % (S2M2), de 51 ± 2 % (S2M3), de 76 ± 3 % (S2M4) e de 57 ± 2 % (S2M5).

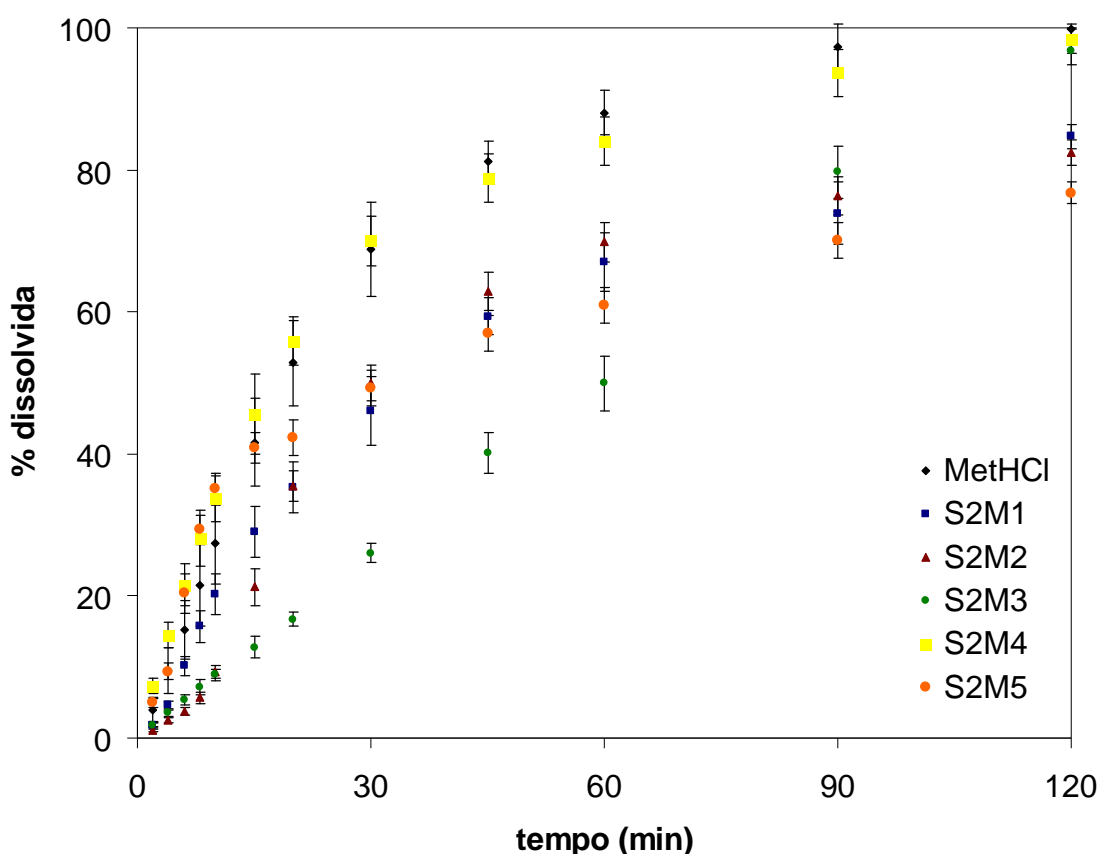


Figura 36 – Perfis de liberação *in vitro* do fármaco MethCl e das formulações S2M1, S2M2, S2M3, S2M4 e S2M5 em fluido gástrico simulado (HCl 0,1 mol.L⁻¹), obtidos por meio do sistema de células de fluxo

Utilizando a análise de variância (ANOVA), foi verificado que há diferença significativa entre os valores de eficiência de dissolução das formulações S2M1 [$f(7,71) = 54,29$, $p = 0,0018$], S2M2 [$f(7,71) = 64,19$, $p = 0,0013$], S2M3 [$f(7,71) = 132,51$, $p = 0,00032$] e S2M5 [$f(7,71) = 71,05$, $p = 0,0011$], quando comparados individualmente com os valores de eficiência de dissolução do MetHCl puro, ao nível de significância de 5 %. Entretanto, a ANOVA revelou que não existe diferença significativa entre a eficiência de dissolução do produto S2M4 [$f(7,71) = 0,17$, $p = 0,7012$] e a eficiência de dissolução do fármaco puro, no mesmo nível de significância.

A Figura 37 sumariza os modelos matemáticos que ajustaram de forma mais adequada os perfis de liberação do fármaco puro e dos materiais microparticulados que constituem o sistema S2, considerando os resultados obtidos para o coeficiente de correlação (r), para o critério de seleção do modelo (MSC) e para o ajuste gráfico proposto pelo software *MicroMath Scientist*®.

Como mostrado no sistema S1, a equação monoexponencial (Figura 37 a) foi a que melhor ajustou os dados de dissolução para o MetHCl puro ($r = 0,999$ e $MSC = 5,05$), indicando uma constante cinética de $k = 0,0355 \text{ min}^{-1}$. Para as micropartículas S2M1, a equação biexponencial (Figura 37 b) forneceu o ajuste mais adequado ($r = 0,999$ e $MSC = 5,62$), com $\alpha = 0,0551 \text{ min}^{-1}$ e $\beta = 0,0109 \text{ min}^{-1}$. Valores de $r = 0,985$, $MSC = 3,15$ e $k = 0,0185 \text{ min}^{-1}$ foram obtidos a partir da aplicação da equação monoexponencial (Figura 37 c) para a formulação S2M2. A equação de ordem zero (Figura 37 d) foi a que ajustou mais adequadamente os dados de dissolução do produto S2M3 ($r = 0,998$, $MSC = 5,45$ e $k = 0,8404 \text{ min}^{-1}$). Para a formulação S2M4, a equação monoexponencial (Figura 37 e) forneceu o melhor ajuste ($r = 0,999$ e $MSC = 4,82$), com $k = 0,0385 \text{ min}^{-1}$. Valores de $r = 0,996$, $MSC = 4,24$, $\alpha = 0,1680 \text{ min}^{-1}$ e $\beta = 0,0083 \text{ min}^{-1}$ foram calculados a partir da utilização da equação biexponencial (Figura 37 f) para a formulação S2M5.

A partir dos resultados encontrados, é possível demonstrar a influência dos diferentes material(ais) polimérico(s) avaliados na modificação do perfil de liberação do fármaco em estudo. Para os materiais S2M1, S2M3 e S2M5, ocorreu a alteração da cinética de liberação, passando do modelo monoexponencial (MetHCl puro) para o modelo biexponencial (formulações S2M1 e S2M5) ou para o modelo de ordem zero (formulação S2M3). Ainda para o produto S2M3, é importante destacar que a cinética de liberação foi explicada segundo a equação de ordem zero, o que

representa que a velocidade de liberação do fármaco é constante em função do tempo, o que é altamente desejável em formas farmacêuticas de liberação modificada (AULTON, 2005), permitindo a liberação sustentada do ativo (FREIBERG & ZHU, 2004).

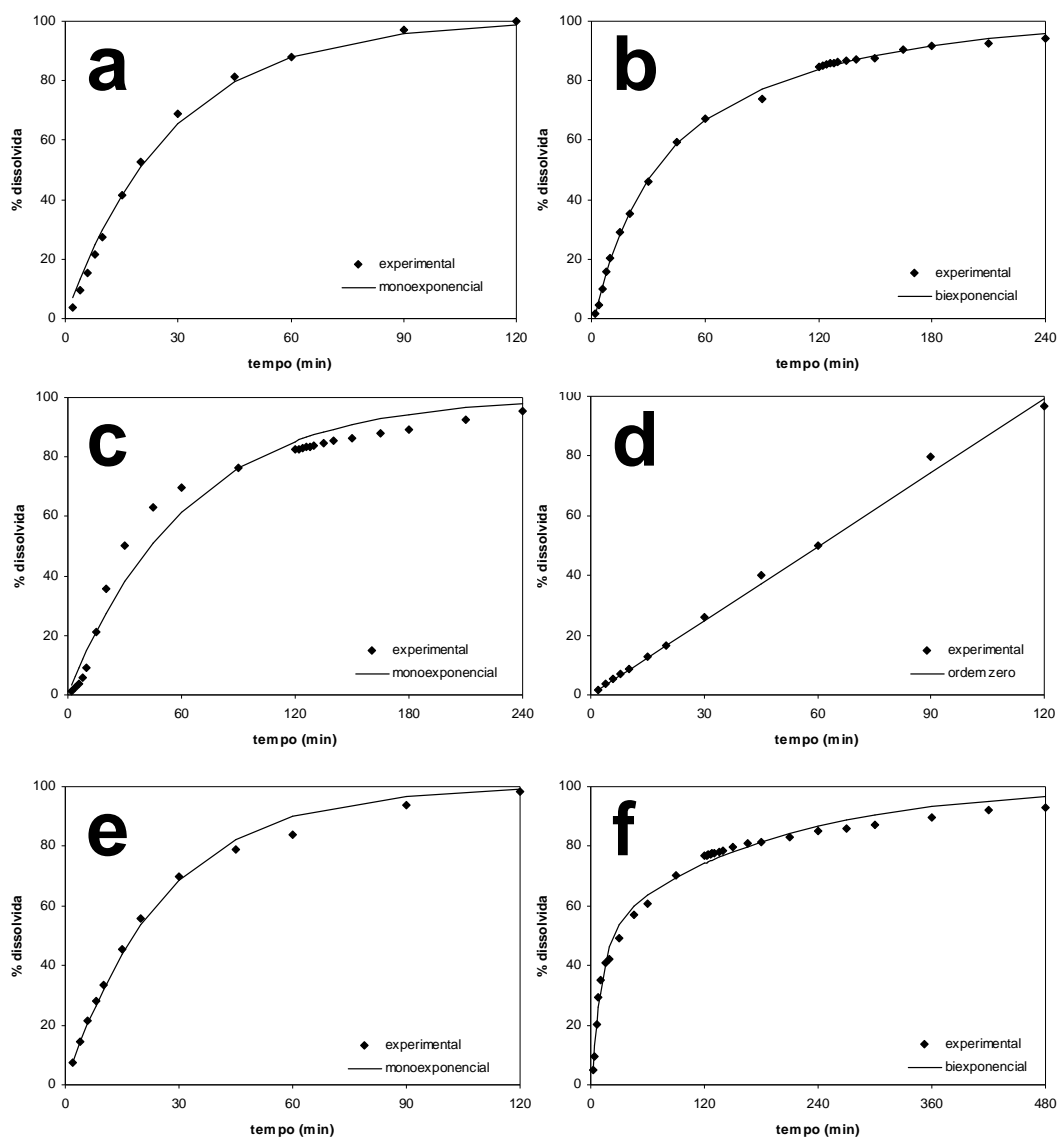


Figura 37 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para o MethHCl puro e para as formulações do sistema S2, com base na modelagem matemática, a partir dos perfis de liberação *in vitro*; modelagem matemática da equação monoexponencial para o MethHCl puro (a); modelagem matemática da equação biexponencial para as micropartículas S2M1 (b); modelagem matemática da equação monoexponencial para as micropartículas S2M2 (c); modelagem matemática da equação de ordem zero para as micropartículas S2M3 (d); modelagem matemática da equação monoexponencial para as micropartículas S2M4 (e); modelagem matemática da equação biexponencial para as micropartículas S2M5 (f)

Com relação à formulação S2M2, o modelo monoexponencial foi mantido, entretanto, o sistema microparticulado possibilitou uma redução no valor da constante de liberação k . O produto S2M4 não apresentou alteração no modelo cinético de liberação e revelou uma constante cinética de $k = 0,0385 \text{ min}^{-1}$, muito semelhante à observada para o MetHCl puro. Dessa forma, é possível admitir que a microencapsulação não ocorreu para a formulação S2M4, estando o fármaco adsorvido à superfície dos polímeros. Considerando o difratograma do material S2M4 (Figura 27), no qual não foram visualizados os picos indicativos de cristalinidade do ativo, é plausível ainda, sugerir que o fármaco se encontra no estado amorfo. Essa proposta corrobora com os dados obtidos por MEV, nos quais o produto revelou uma estrutura fundida, resultante da sobreposição dos diferentes materiais constituintes.

A Figura 38 compila os resultados da modelagem matemática efetuada para as formulações do sistema S2, de acordo com o modelo de Korsmeyer-Peppas. Aplicando a lei das potências, valores de n igual 0,79 (formulação S2M1), 1,37 (formulação S2M2), 0,97 (formulação S2M3), 0,73 (formulação S2M4) e 0,40 (formulação S2M5) foram obtidos. Para as micropartículas S2M5, foi verificado um n menor do que 0,43, indicando que o mecanismo de liberação é resultante da difusão do fármaco através da matriz polimérica, conforme a lei de Fick (SIEPMANN & PEPPAS, 2001), o que possibilita inclusive, confirmar a proposição de que o MetHCl está em dispersão molecular no polímero Methocel® F4M (hidroxipropilmetilcelulose).

Valores de n superiores a 0,85 estão relacionados à degradação do material polimérico e ainda, no caso de polímeros insolúveis, à entrada do frente do solvente na estrutura das micropartículas, com a dissolução do ativo e formação de poros, que favorecem a sua remoção ao meio externo (SIEPMANN & PEPPAS, 2001). Esse fato foi constatado para as formulações S2M2 ($n = 1,37$) e S2M3 ($n = 0,97$). Em ambos os casos, mas em diferentes composições, foi empregado o polímero insolúvel Eudragit® RS 100, que possui unidades de metacrilato de amônio, na forma de sal quaternário, que conferem a característica de permeabilidade aos meios de dissolução habituais para esse material. Na formulação S2M2, foi utilizado ainda, o polímero pH dependente Eudragit® S 100, que é insolúvel no meio de dissolução HCl 0,1 mol.L⁻¹. Assim, a hipótese da entrada do frente de solvente, com a dissolução do fármaco e formação de poros na estrutura polimérica, pode ser

confirmada, sendo ainda, concordante com os resultados obtidos por difratometria de raio-X para a formulação S2M3, em que foram verificados os picos de cristalinidade do fármaco (Figura 26), com a formação de domínios na estrutura da microcápsula. Para a formulação S2M2, embora o difratograma não tenha evidenciado os picos de cristalinidade do MetHCl (Figura 25), com base nos resultados de dissolução, é possível sugerir a presença de pequenos domínios do ativo na estrutura das micropartículas.

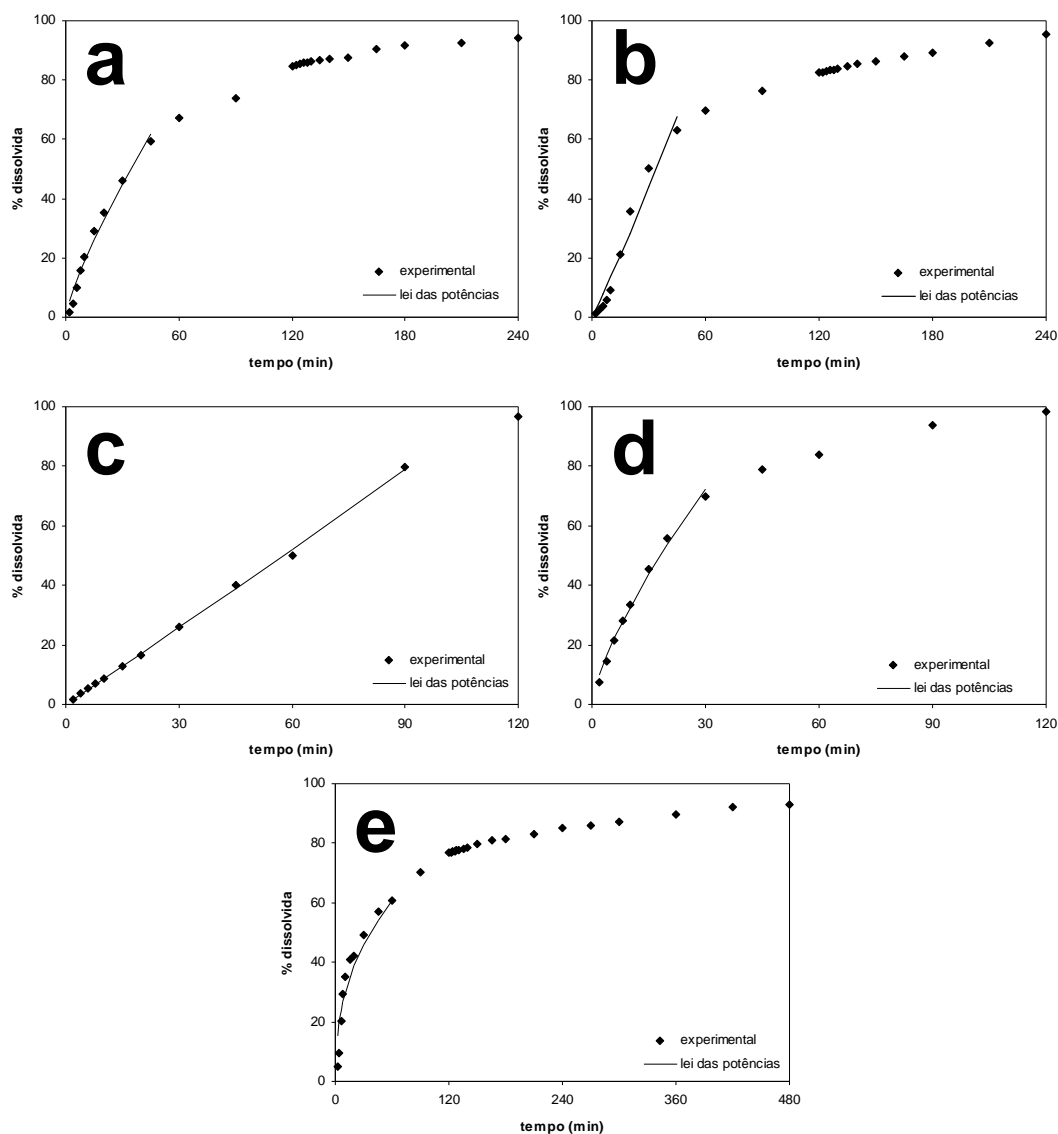


Figura 38 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais à modelagem matemática da equação de Korsmeyer-Peppas para os materiais S2M1 (a), S2M2 (b), S2M3 (c), S2M4 (d) e S2M5 (e)

As formulações S2M1 e S2M4 mostraram valores de n entre 0,43 e 0,85, indicando que o mecanismo de liberação do fármaco ocorre por um transporte anômalo (SIEPMANN & PEPPAS, 2001), no qual existe a sobreposição dos eventos de difusão Fickiana do bioativo e da entrada do fronte de solvente na estrutura dos produtos. Dessa forma, relacionando todos os resultados do estudo de liberação *in vitro* com as informações fornecidas por difração de raio-X, para a micropartícula S2M1, é possível sugerir que o fármaco está molecularmente disperso na matriz de Eudragit® S 100, enquanto que para o produto S2M4, como discutido anteriormente, o ativo está amorfo, adsorvido na superfície dos materiais poliméricos.

Esses resultados permitem indicar que as formulações S2M1, S2M2, S2M5 e, particularmente a formulação S2M3, podem ser consideradas como estratégias promissoras para a elaboração de formas farmacêuticas de liberação modificada (comprimidos) contendo o fármaco MetHCl, especialmente em função dos valores obtidos para o rendimento, para a eficiência de incorporação e no estudo de liberação *in vitro*. Apesar disso, é preciso considerar que o sistema S2 utiliza, como solvente orgânico, o metanol, de caráter reconhecidamente tóxico. Assim, de forma a evitar o emprego desse solvente, foi proposto um procedimento alternativo, designado como sistema S3.

4.3 SISTEMA S3: MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLORIDRATO DE METFORMINA, PREPARADAS PELO MÉTODO DE SECAGEM POR ASPERSÃO, A PARTIR DE POLÍMEROS (MET)ACRÍLICOS E/OU CELULÓSICO

Considerando os resultados obtidos para o sistema S2, e como estratégia para a transposição de escala, foi desenvolvido o sistema S3, utilizando o método de secagem por aspersão ou *spray-drying*.

Esse processo é baseado na nebulização, por uma câmara de secagem, de uma solução ou suspensão contendo a substância ativa. Devido à circulação de ar aquecido no equipamento, o solvente é rapidamente evaporado, transformando as pequenas gotículas em partículas sólidas (RATTES & OLIVEIRA, 2007; ESPOSITO *et al.*, 2002). Esse método, amplamente difundido no âmbito farmacêutico-tecnológico, tem sido usado na preparação de micropartículas a partir

de diferentes meios aquosos (RATTES & OLIVEIRA, 2007; VEHRING, FOSS & LECHUGA-BALLESTEROS, 2007; GHOSH, 2006; PEREIRA *et al.*, 2006; RAFFIN *et al.*, 2006b; RÉ, 2006; LO, TSAI & KUO, 2004; BILLON *et al.*, 2002; PALMIERI *et al.*, 2001; BILLON *et al.*, 2000; ESPOSITO *et al.*, 2000; RÉ, 1998; DEASY, 1984) e para garantir propriedades de fluxo a determinados excipientes (ONEDA & RÉ, 2003).

As micropartículas do sistema S3 foram obtidas diretamente pelo método proposto, sem a necessidade de secagem posterior, resultando em materiais de aspecto pulverulento, brancos ou quase brancos.

4.3.1 Rendimento

Os valores de rendimento para as formulações do sistema S3, considerando as condições experimentais e os materiais poliméricos de partida (Tabela 19), variaram entre $21,5 \pm 5,2 \%$ e $50,4 \pm 1,7 \%$, respectivamente para os materiais S3M5 e S3M6.

Tabela 19 – Rendimento* obtido para as formulações S3M1 a S3M10, a partir do método de secagem por aspersão (sistema S3)

Formulação	Polímero(s)	Rendimento (%)
S3M1	Eud S100	$46,7 \pm 2,2$
S3M2	Eud S100 + Eud RS30D	$41,6 \pm 2,7$
S3M3	Eud RS30D	$37,6 \pm 2,8$
S3M4	Eud S100 + Meth F4M	$25,2 \pm 3,9$
S3M5	Meth F4M	$21,5 \pm 5,2$
S3M6	Eud S100	$50,4 \pm 1,7$
S3M7	Eud S100 + Eud RS30D	$42,7 \pm 2,6$
S3M8	Eud RS30D	$38,4 \pm 2,5$
S3M9	Eud S100 + Meth F4M	$26,8 \pm 3,8$
S3M10	Meth F4M	$25,1 \pm 4,7$

* média (n = 3) \pm desvio padrão

Para as micropartículas baseadas exclusivamente nos polímeros met(acrílicos) Eudragit[®] S 100 e Eudragit[®] RS 30 D, os valores de rendimento estão de acordo com o descrito em trabalhos precedentes (HEGAZY, DEMIREL & YAZAN, 2002; ESPOSITO *et al.*, 2002), nos quais foram obtidas micropartículas contendo, respectivamente, piridostigmina e ácido ascórbico, por meio do método de *spray-drying*.

Entretanto, as formulações que apresentavam o polímero Methocel® F4M (hidroxipropilmetilcelulose) na sua composição revelaram rendimentos inferiores. Esses valores podem estar relacionados à viscosidade mais elevada das dispersões poliméricas que foram conduzidas ao processo de secagem por aspersão. Conforme GIBSON (2001), o controle da viscosidade das soluções/dispersões permite que o líquido de alimentação seja mais facilmente convertido em gotículas, o que otimiza o processo de *spray-drying*, resultando em rendimentos mais elevados.

Os menores rendimentos verificados para as partículas contendo o MetHCl podem ser justificados pela maior adsorção desses pós na torre de secagem, processo observado visivelmente, ou ainda, devido às perdas de fármaco não encapsulado com o fluxo do ar de secagem, através da abertura superior do ciclone (RATTES & OLIVEIRA, 2007; OLIVEIRA, BOTT & SOUZA, 2006; SOUZA & OLIVEIRA, 2006).

4.3.2 Eficiência de encapsulação

4.3.2.1 Validação do método analítico para a quantificação do MetHCl presente nas micropartículas dos sistemas S2 e S3

Para os sistemas microparticulados S2 e S3, a linearidade do método de espectrofotometria UV-Vis foi confirmada pelo valor do coeficiente de correlação (r) médio obtido a partir das três curvas analíticas ensaiadas, na faixa de 1 a 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, em tampão fosfato (pH 7,4). O valor do r médio, superior a 0,9999, indica a existência de uma regressão linear significativa. A Figura 39 apresenta a representação gráfica da curva analítica média para a quantificação do MetHCl, informando ainda, a equação da reta e o valor do r .

Com as informações provenientes do estudo de linearidade, foram calculados os limites de detecção e de quantificação, através das Equações 6 e 7, respectivamente. Os valores verificados foram de 0,09622 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o limite de detecção e de 0,28895 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o limite de quantificação.

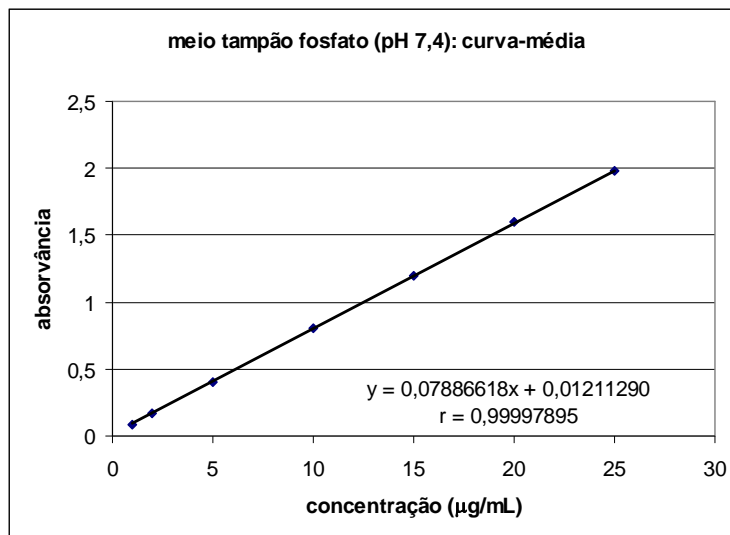


Figura 39 – Representação gráfica da curva analítica padrão para determinação do MetHCl obtida por espectrofotometria UV-Vis ($\lambda = 232 \text{ nm}$), em tampão fosfato (pH 7,4)

Os resultados de repetibilidade e de precisão intermediária, expressos em termos de desvio padrão relativo (DPR) estão apresentados na Tabela 20. Para ambos os estudos, os valores de desvio padrão relativo foram menores que 5%, demonstrando a adequação do método analítico em julgamento (ANVISA, 2003).

Tabela 20 – Valores experimentais obtidos nos ensaios de repetibilidade e de precisão intermediária

Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	DPR dia 1 (%)	DPR dia 2 (%)	DPR dia 3 (%)	Média (%)
4	3,12			
12	1,64	3,03	1,01	1,89
22	2,54			
Média (%)	2,43			

No que diz respeito à avaliação da exatidão, o método permitiu a recuperação de 102,97 % para a concentração final de $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$, 100,89 % para $15 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e 104,42 % para $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$, resultando em uma percentagem média de recuperação de 102,76 %, o que caracteriza o método como exato, segundo o preconizado pelo ICH (1996) e pela ANVISA (2003).

4.3.2.2 Taxa de recuperação do MetHCl presente nas micropartículas

As micropartículas apresentaram teores do fármaco variando entre $85,9 \pm 5,1 \text{ mg.g}^{-1}$ e $89,7 \pm 2,5 \text{ mg.g}^{-1}$ e faixa de eficiência de encapsulação de 90,1 a 94,0 %, respectivamente para as formulações S3M5 e S3M1 (Tabela 21).

Tabela 21 – Teor¹ e eficiência de encapsulação² do MetHCl nas micropartículas de S3M1 a S3M5

Formulação	MetHCl incorporado (mg.g^{-1})	Eficiência de encapsulação (%)
S3M1	$89,7 \pm 2,5$	94,0
S3M2	$86,5 \pm 1,8$	90,7
S3M3	$86,1 \pm 5,2$	90,3
S3M4	$87,0 \pm 5,2$	91,2
S3M5	$85,9 \pm 5,1$	90,1

¹ média (n = 3) \pm desvio padrão

² média (n = 3)

Os resultados observados para a eficiência de encapsulação estão de acordo com as informações indicadas na literatura, que normalmente menciona valores elevados de recuperação dos ativos nos materiais microparticulados, quando se emprega o método de *spray-drying* para fármacos hidrofílicos. RAFFIN *et al.* (2006b) obtiveram micropartículas poliméricas contendo pantoprazol sódico sesquidratado a partir da secagem por aspersão, usando uma blenda de Eudragit[®] S 100 e Methocel[®] F4M. As partículas foram produzidas em diferentes equipamentos e condições operacionais, avaliando os resultados em escala de laboratório e em escala piloto. Para os materiais preparados em escala piloto, foram encontrados valores de eficiência de incorporação entre 88,1 e 100,1 %. ESPOSITO *et al.* (2002), quando da obtenção de micropartículas baseadas em polímeros acrílicos contendo ácido ascórbico verificaram altos valores de eficiência de encapsulação, compreendidos entre 98 e 100 %, a partir do procedimento de *spray-drying*.

4.3.3 Determinação do teor de umidade

A Tabela 22 compila os resultados referentes ao teor de água presente no MetHCl e nas formulações que integram o sistema S3.

Tabela 22 – Teor de água¹ obtido para o MetHCl e para as micropartículas do sistema S3

Material	Umidade (%)
MetHCl	0,84 ± 0,13
S3M1	4,26 ± 0,35
S3M2	3,61 ± 0,29
S3M3	3,19 ± 0,32
S3M4	4,87 ± 0,34
S3M5	5,52 ± 0,37
S3M6	4,15 ± 0,26
S3M7	3,52 ± 0,25
S3M8	2,97 ± 0,30
S3M9	4,44 ± 0,33
S3M10	5,28 ± 0,31

¹ média (n = 3) ± desvio padrão

A partir do método de secagem por aspersão, foram elaborados materiais apresentando diferentes teores de umidade, de $2,97 \pm 0,30$ % (formulação S3M8) até $5,52 \pm 0,37$ % (formulação S3M5). Esses resultados, quando confrontados com as determinações realizadas para os sistemas S1 e S2, podem ser considerados mais elevados. Entretanto, analisando especificamente os trabalhos que utilizam o método de *spray-drying*, é possível observar que esses valores são condizentes com a literatura. RATTES & OLIVEIRA (2007) ao preparar micropartículas de Eudragit® RS 30 D contendo diclofenaco sódico pelo mesmo método observaram valores de umidade entre 3,6 e 14,0 %. O menor teor de água foi conseguido quando foram selecionados o menor fluxo de alimentação da formulação ($0,18 \text{ L.h}^{-1}$) e a maior temperatura de entrada na câmara de secagem de ($150 \text{ }^{\circ}\text{C}$). No trabalho desenvolvido por RAFFIN *et al.* (2006b) as micropartículas de Eudragit® S 100 e Methocel® F4M contendo pantoprazol sódico sesquidratado apresentaram valores de umidade inferiores a 4 %, o que revela, segundo as autoras, a efetividade do processo de secagem. BRUSCHI *et al.* (2003) elaboraram micropartículas de gelatina contendo própolis, com teores de umidade variando de 4,12 a 9,40 %.

No presente estudo, principalmente as micropartículas contendo o polímero Methocel® F4M, indicaram valores superiores a 4 %, o que pode estar relacionado aos parâmetros de secagem utilizados, às condições ambientais de temperatura e umidade (não avaliadas) e ao polímero hidroxipropilmetilcelulose, que possui características higroscópicas (KIBBE, 2000).

O conteúdo de umidade das partículas submetidas ao processo de *spray-drying* é um importante indicativo da eficiência de secagem e da qualidade dos produtos obtidos. As propriedades de fluxo, a compressibilidade, a tendência à aglomeração e a estabilidade dos materiais são altamente dependentes dos teores de água (RATTES & OLIVEIRA, 2007; BOSQUILLON *et al.*, 2004).

4.3.4 Análises morfológicas e de superfície

As análises morfológicas das partículas do sistema S3, estabelecidas por MEV, estão representadas na Figura 40. A maioria das partículas revelaram formato semelhante ao de hemácias, com várias concavidades em uma mesma partícula. Segundo WALTON (2000), as concavidades são decorrentes da ação de capilaridade na superfície seca das partículas que, no momento da extração do líquido para o exterior, acontece de forma uniforme ao redor da gotícula, criando uma pressão interna negativa e resultando em partículas colabadas. Esse fenômeno também pode ser devido ao impacto das partículas úmidas na parede da câmara de secagem, que pode ser responsável por algum efeito de deformação. Entretanto, as micropartículas obtidas a partir do poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metila) (Eudragit® S 100) (Figura 40 a,f) apresentaram geometria esférica e superfície lisa, semelhante ao observado por ESPOSITO *et al.* (2002). Esse fato pode estar relacionado a uma maior rigidez do material polimérico nas condições de secagem, o que impediu a formação de estruturas colabadas. Além disso, como assinalado nos sistemas S1 e S2, não foram verificados cristais do MetHCl na superfície das micropartículas que constituem o sistema S3.

Os resultados obtidos a partir da análise por difratometria de raio-X para o sistema S3 estão mostrados nas Figuras 41 a 44. Os difratogramas das micropartículas revelaram um perfil de difração semelhante ao verificado para as respectivas misturas físicas, em geral, com menores intensidades de difração cristalina. Para os difratogramas das micropartículas contendo o MetHCl (S3M1, S3M2, S3M3, S3M4 e S3M5), é possível observar a contribuição de alguns picos de cristalinidade do fármaco, o que denota a existência de domínios do ativo na estrutura dos materiais microparticulados.

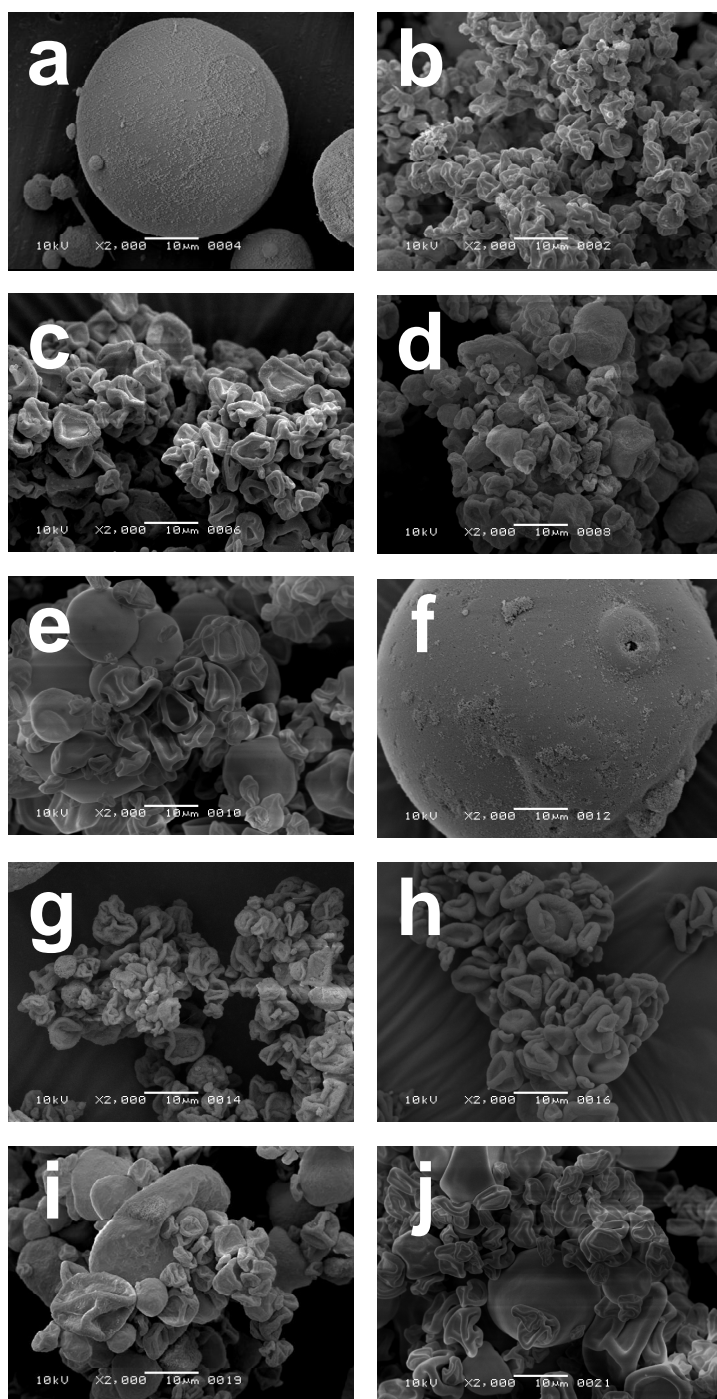


Figura 40 – Aspectos morfológicos das micropartículas do sistema S3, obtidos por MEV, S3M1 (a), S3M2 (b), S3M3 (c), S3M4 (d), S3M5 (e), S3M6 (f), S3M7 (g), S3M8 (h), S3M9 (i) e S3M10 (j)

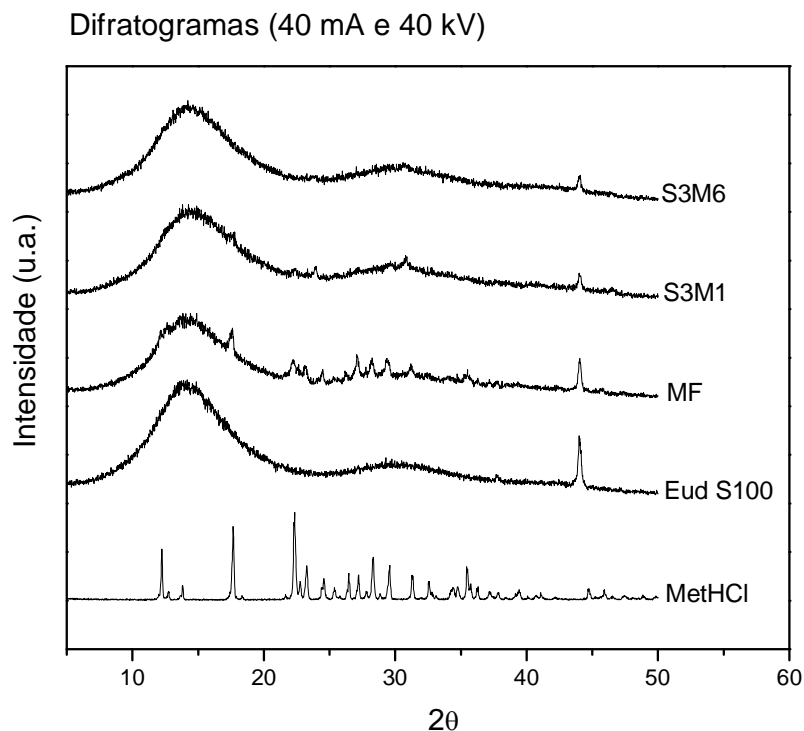


Figura 41 – Difratogramas do MetHCl, do polímero de partida Eud S100, da mistura física (MetHCl:Eud S100, 1:9 m/m) e das micropartículas S3M1 e S3M6 que integram o sistema S3

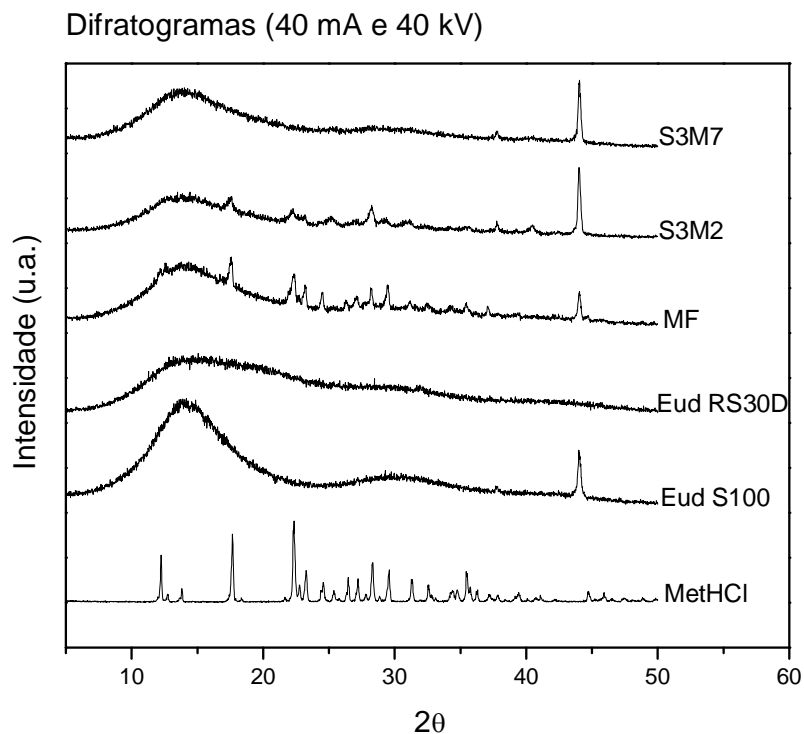


Figura 42 – Difratogramas do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Eud RS30D, da mistura física (MetHCl:Eud S100:Eud RS30D, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S3M2 e S3M7 que compõem o sistema S3

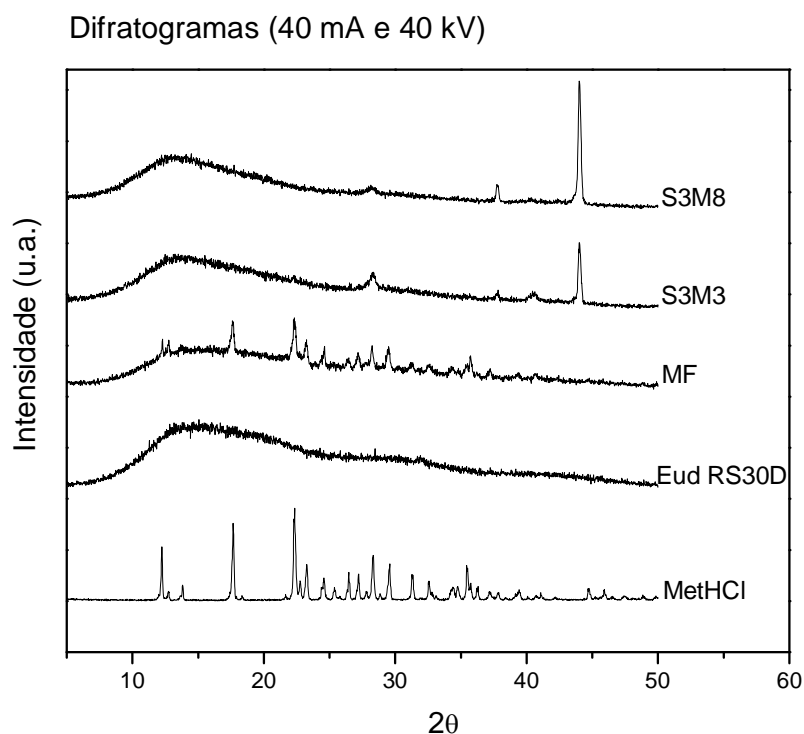


Figura 43 – Difratogramas do MetHCl, do polímero de partida Eud RS30D, da mistura física (MetHCl:Eud RS30D, 1:9 m/m) e das micropartículas S3M3 e S3M8 que formam o sistema S3

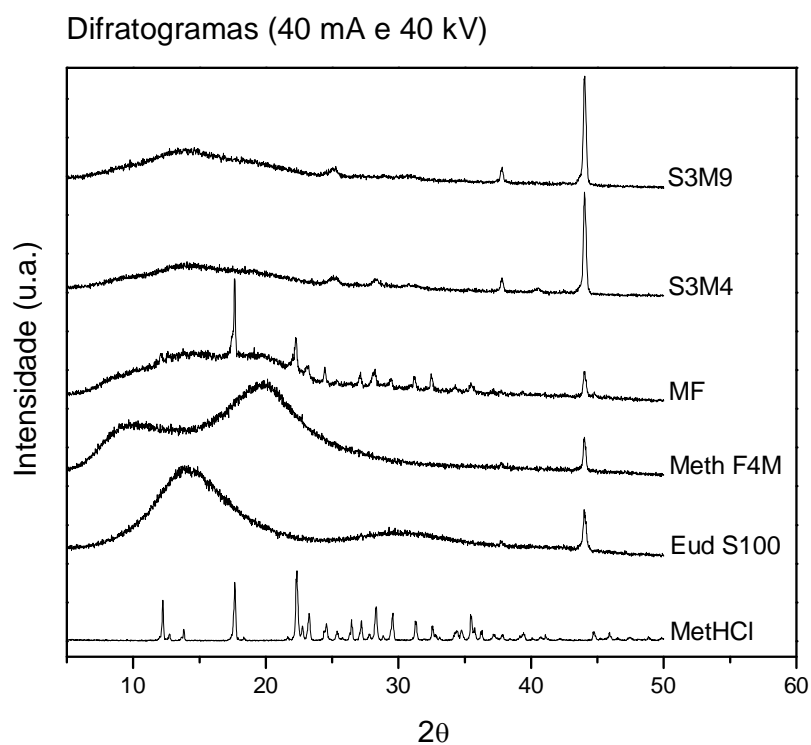


Figura 44 – Difratogramas do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Meth F4M, da mistura física (MetHCl:Eud S100:Meth F4M, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S3M4 e S3M9 que constituem sistema S3

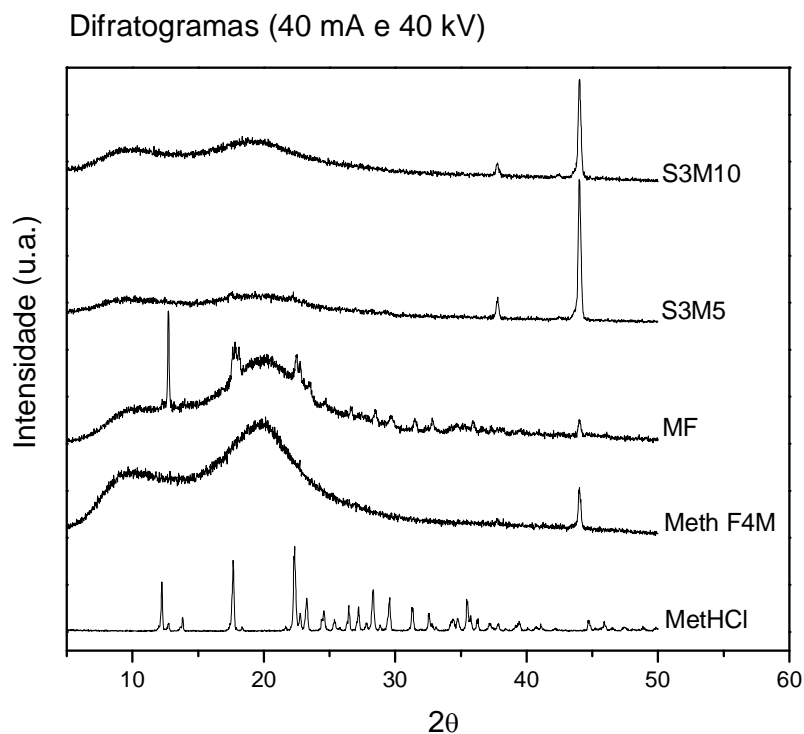


Figura 45 – Difratogramas do MetHCl, do polímero de partida Meth F4M, da mistura física (MetHCl: Meth F4M, 1:9 m/m) e das micropartículas S3M5 e S3M10 que fazem parte do sistema S3

Dessa forma, embora o método de microencapsulação por *spray-drying* tenha conduzido a uma redução da cristalinidade do MetHCl, os difratogramas permitem sugerir que o ativo não está totalmente disperso, permanecendo ainda, como fármaco retido na matriz polimérica, por meio da formação de domínios.

4.3.5 Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica

A maioria das micropartículas do sistema S3 revelou diâmetro médio próximo a $10\ \mu\text{m}$ e valor de *span* menor do que 2, conforme mostrado na Tabela 23 e ilustrado na Figura 46. Esses resultados são concordantes com os descritos em outros estudos empregando o método de secagem por aspersão. ESPOSITO *et al.* (2002), quando da preparação de micropartículas metacrílicas contendo ácido ascórbico, obtiveram materiais com tamanho variando entre $4,73$ e $19,43\ \mu\text{m}$. Diâmetros médios entre $9,1$ e $24,5\ \mu\text{m}$ e valores de *span* de $1,36$ a $2,03$ foram verificados por RATTES & OLIVEIRA (2007), ao avaliarem a distribuição de

tamanho das micropartículas formuladas com Eudragit® RS 30 D e diclofenaco sódico, elaboradas a partir do uso de diferentes parâmetros de secagem.

Tabela 23 – Diâmetro médio e *span*¹ (dispersão granulométrica) para as micropartículas do sistema S3, indicando o teor² de MetHCl incorporado em cada material

Formulação	MetHCl incorporado (mg.g⁻¹)	Diâmetro médio (µm)	Span
S3M1	89,7 ± 2,5	34,19	1,53
S3M2	86,5 ± 1,8	6,85	1,87
S3M3	86,1 ± 5,2	20,11	2,43
S3M4	87,0 ± 5,2	9,60	1,86
S3M5	85,9 ± 5,1	10,98	1,53
S3M6	—	37,73	1,40
S3M7	—	7,15	1,73
S3M8	—	7,81	1,72
S3M9	—	11,04	2,01
S3M10	—	11,19	1,46

¹ calculado a partir do diâmetro das partículas correspondente a 90 %, 10 % e 50 % da distribuição acumulada para cada amostra

² média (n = 3) ± desvio padrão

Entretanto, as micropartículas baseadas no polímero Eudragit® S 100 (S3M1 e S3M6) apresentaram diâmetros médios mais elevados, 34,19 e 37,73 µm, respectivamente. Esses valores estão de acordo com as observações feitas por MEV (Figura 40 a,f), nas quais foram visualizadas partículas esféricas, relativamente maiores do que os outros materiais obtidos.

Considerando os histogramas referentes à dispersão de tamanho, é possível verificar que a formulação S3M3 (Figura 46 c), com valor de *span* de 2,43, possui uma distribuição com tendência bimodal. Porém, a imagem fornecida por MEV (Figura 40 c) possibilita observar que essas micropartículas têm um tamanho uniforme, não se dividindo em duas populações distintas. Esses resultados contrastantes podem ser explicados pela formação de aglomerados durante a análise por espectrometria de difração a laser, fato também verificado para a formulação controle (S3M8, Figura 46 h), embora, neste caso, não tenha conduzido a um acréscimo do valor de *span*.

Ainda, como discutido no sistema S1, as micropartículas com tamanho ao redor de 10 µm têm uma baixa absorção pela mucosa intestinal. Assim, a administração oral desses sistemas microparticulados pode prover um efeito de

liberação sustentada do fármaco, pois apresentam um trânsito intestinal prolongado, em função da adsorção às microvilosidades dos enterócitos (DESAI *et al.*, 1996).

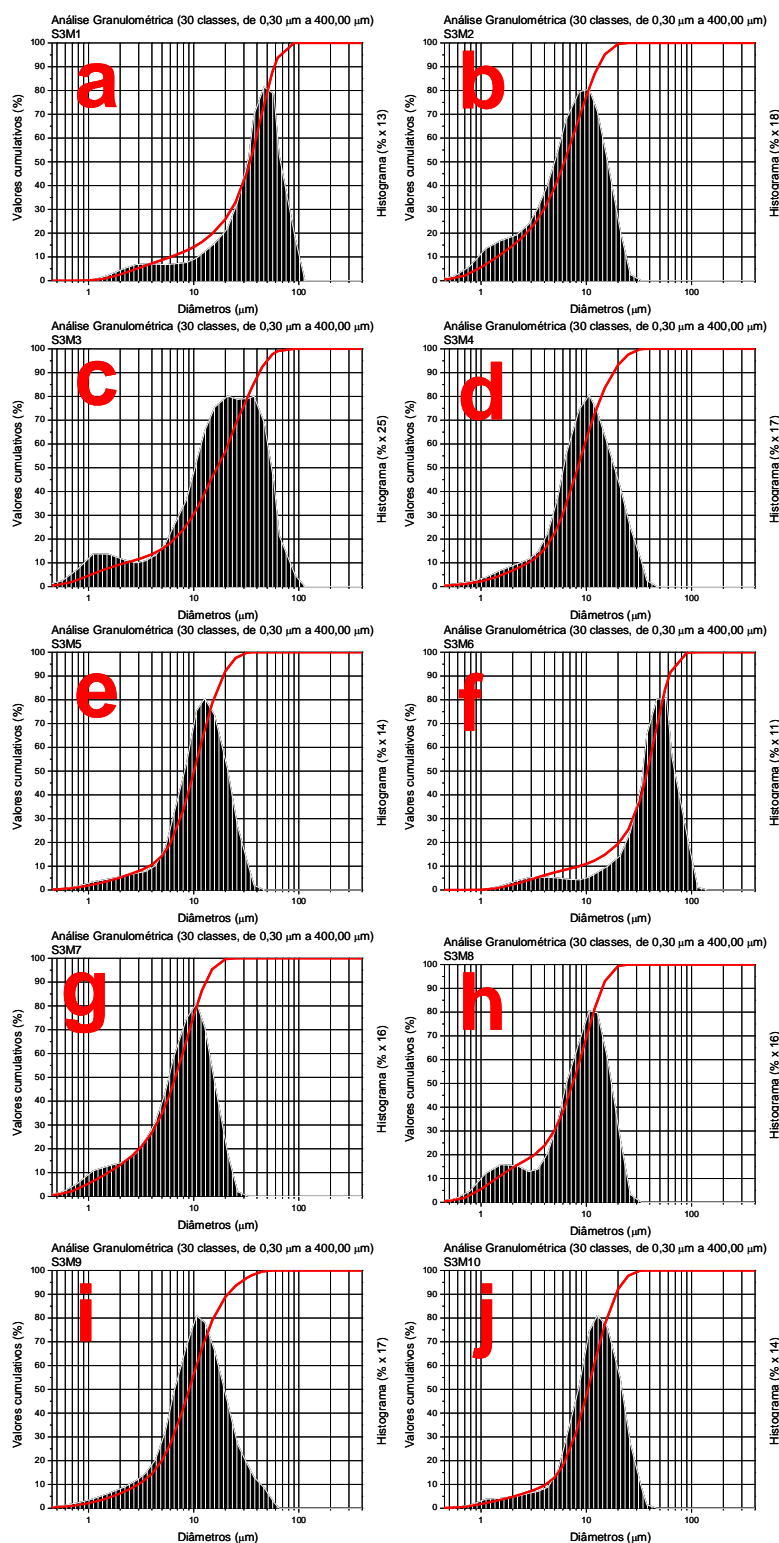


Figura 46 – Distribuição granulométrica obtida para as micropartículas do sistema S3, S3M1 (a), S3M2 (b), S3M3 (c), S3M4 (d), S3M5 (e), S3M6 (f), S3M7 (g), S3M8 (h), S3M9 (i) e S3M10 (j)

4.3.6 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

Na avaliação dos espectros obtidos por IVTF para as amostras do sistema S3 (Figuras 47 a 51), nenhuma diferença nas posições das bandas de absorção foi observada para os espectros das micropartículas contendo o MetHCl, quando confrontados com os espectros das respectivas misturas físicas. Esse comportamento foi semelhante ao verificado na análise por IVTF para os materiais que compõem os sistemas S1 e S2.

CILURZO *et al.* (2003) prepararam sais de sódio e potássio dos copolímeros Eudragit® L 100 e Eudragit® S 100 e mostraram que, quando da ionização, a banda de absorção do grupo ácido carboxílico (1730 cm^{-1}) foi substituída por duas novas bandas, em 1560 cm^{-1} e ao redor de 1400 cm^{-1} , correspondentes à vibração simétrica e anti-simétrica do ânion carboxilato ($-\text{COO}^-$). Para a preparação do sal, uma solução aquosa de NaOH ou KOH a 10 % foi adicionada a uma suspensão aquosa a 5 % do polímero, sendo que a mistura foi nebulizada em *spray-drier*, para que fosse obtido o produto de salinização.

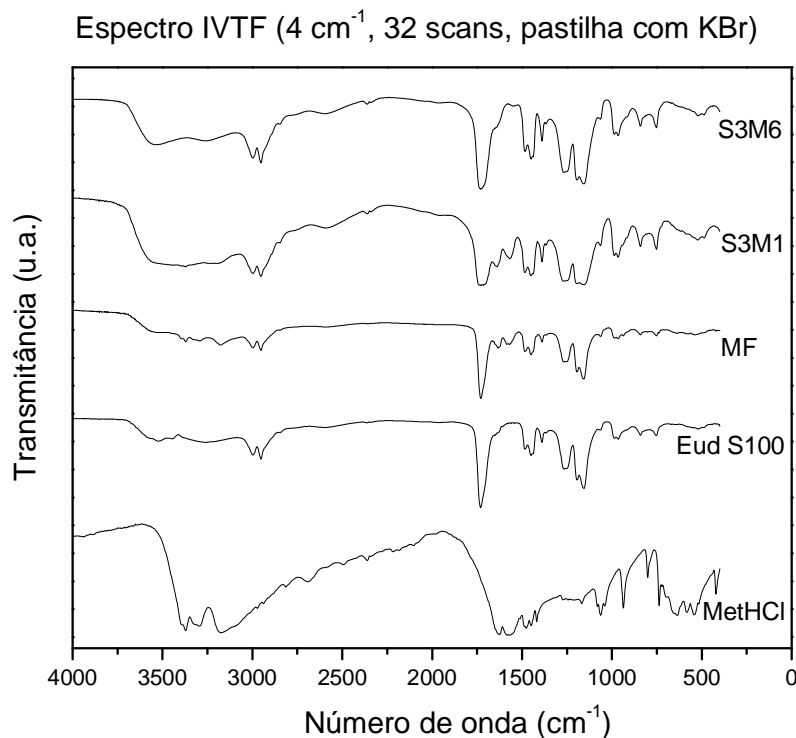


Figura 47 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Eud S100, da mistura física (MetHCl:Eud S100, 1:9 m/m) e das micropartículas S3M1 e S3M6 que integram o sistema S3

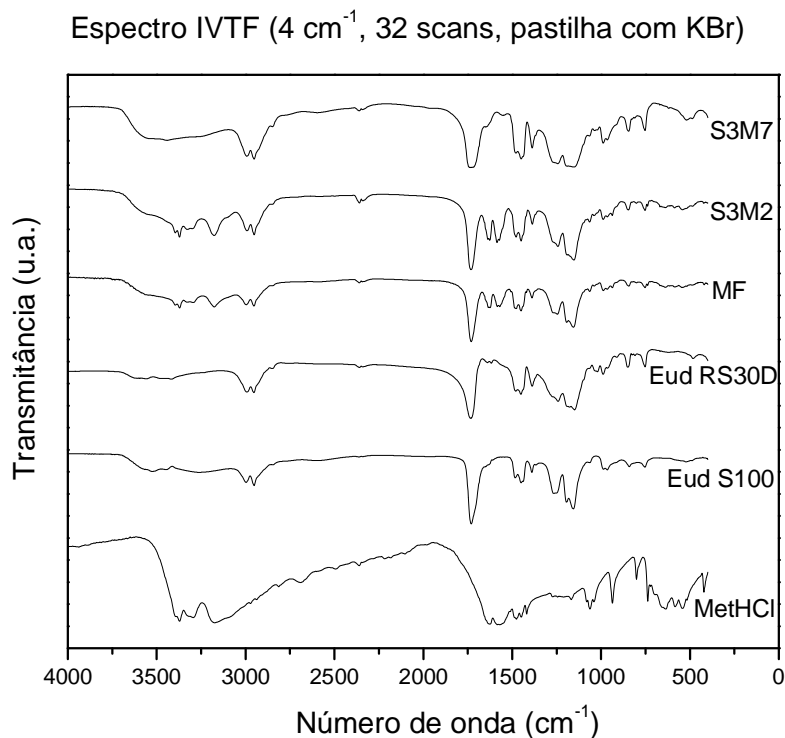


Figura 48 – Espectros IVTF do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Eud RS30D, da mistura física (MetHCl:Eud S100:Eud RS30D, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S3M2 e S3M7 que compõem o sistema S3

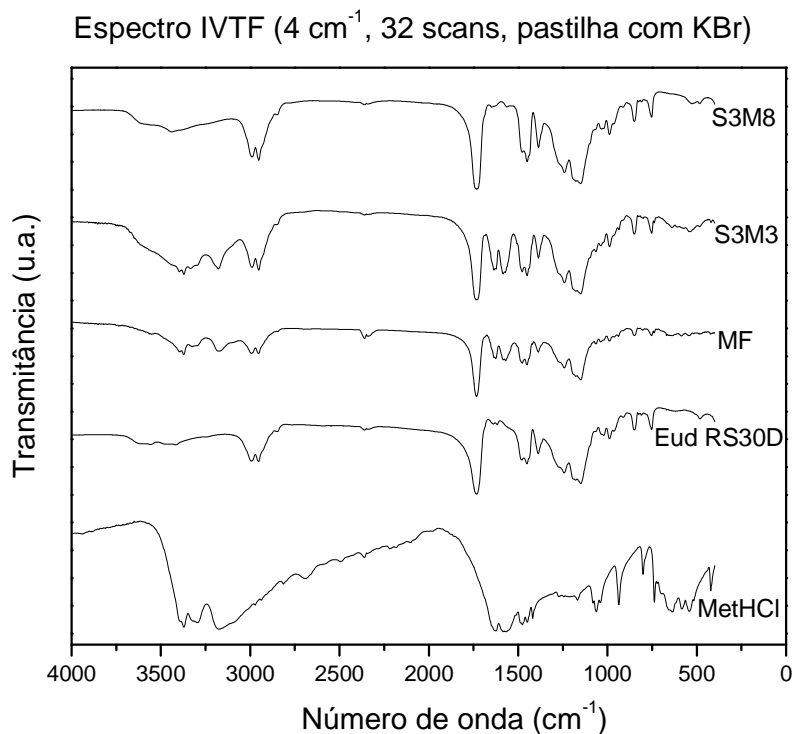


Figura 49 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Eud RS30D, da mistura física (MetHCl:Eud RS30D, 1:9 m/m) e das micropartículas S3M3 e S3M8 que formam o sistema S3

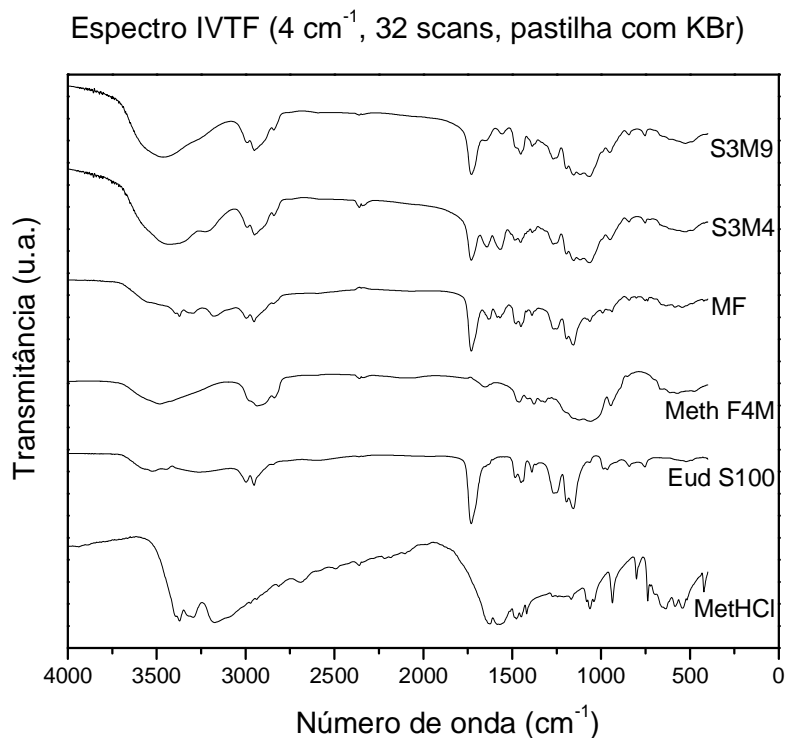


Figura 50 – Espectros IVTF do MetHCl, dos polímeros de partida Eud S100 e Meth F4M, da mistura física (MetHCl:Eud S100:Meth F4M, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S3M4 e S3M9 que constituem sistema S3

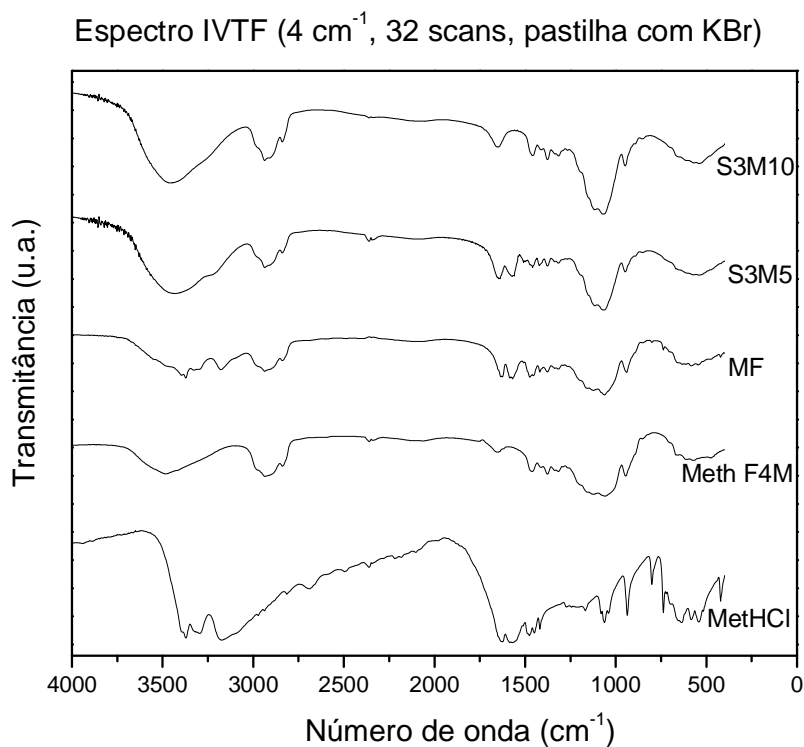


Figura 51 – Espectros IVTF do MetHCl, do polímero de partida Meth F4M, da mistura física (MetHCl: Meth F4M, 1:9 m/m) e das micropartículas S3M5 e S3M10 que fazem parte do sistema S3

Como essas alterações não foram constatadas nos espectros de IVTF das formulações do sistema S3, é possível propor que o tampão fosfato (pH 7,4), utilizado como meio de dissolução/dispersão para a preparação das micropartículas em estudo, não conduz, após o processo de secagem por aspersão, a uma ionização dos grupos carboxílicos existentes nos materiais poliméricos.

4.3.7 Estudo de liberação *in vitro*

A comparação do perfil de dissolução do MetHCl puro com o perfil de liberação verificado para cada uma das formulações do sistema S3, obtidos por meio do sistema de células de fluxo, está representada na Figura 52.

Após 120 min do estudo de liberação *in vitro*, o fármaco puro apresentou uma porcentagem de dissolução de $99,84 \pm 0,07$ %, enquanto que, nesse mesmo tempo de coleta, valores de dissolução de $97,99 \pm 2,04$ %, $89,61 \pm 1,86$ %, $77,81 \pm 1,62$ %, $78,14 \pm 1,63$ % e $48,83 \pm 3,05$ %, foram verificados, respectivamente para os materiais microparticulados S3M1, S3M2, S3M3, S3M4 e S3M5.

Considerando ainda o estágio ácido de dissolução (Figura 53), o MetHCl puro mostrou uma eficiência de dissolução de 77 ± 4 %. A eficiência de dissolução do fármaco a partir das micropartículas atingiu valores de 68 ± 2 %, 57 ± 2 %, 51 ± 2 %, 54 ± 2 % e 26 ± 3 %, para os produtos S3M1, S3M2, S3M3, S3M4 e S3M5, respectivamente. Quando comparados individualmente com os valores de eficiência de dissolução do fármaco puro, empregando a análise de variância (ANOVA), os resultados de eficiência de dissolução observados para todas as formulações do sistema S3 apresentaram diferenças significativas [S3M1: $f(7,71) = 12,56$, $p = 0,02391$, S3M2: $f(7,71) = 74,93$, $p = 0,00098$, S3M3: $f(7,71) = 132,88$, $p = 0,00032$, S3M4: $f(7,71) = 93,66$, $p = 0,00064$ e S3M5: $f(7,71) = 354,92$, $p = 0,00005$], ao nível de significância de 5 %.

Um aspecto interessante é que a formulação S3M2, resultante da utilização concomitante dos polímeros Eudragit® S 100 e Eudragit® RS 30 D, e a formulação S3M4, obtida a partir da blenda dos polímeros Eudragit® S 100 e Methocel® F4M, revelaram perfis de liberação e valores de eficiência de dissolução intermediários às partículas que continham apenas um desses materiais poliméricos.

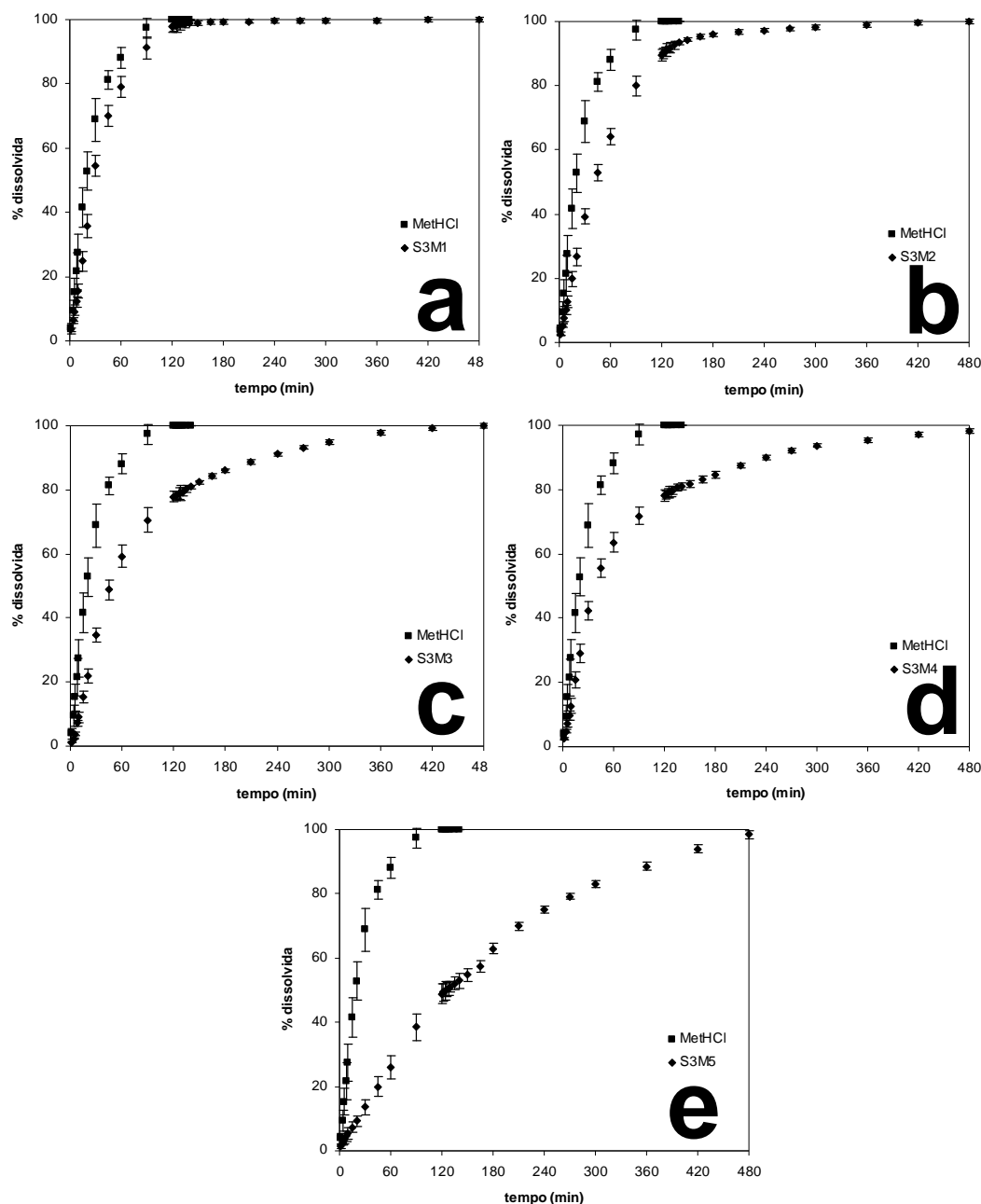


Figura 52 – Comparação entre o perfil de liberação *in vitro* do fármaco MetHCl e das micropartículas S3M1 (a), S3M2 (b), S3M3 (c), S3M4 (d) e S3M5 (e) em fluido gástrico simulado (HCl 0,1 mol.L⁻¹) e em tampão fosfato (pH 7,4), empregando o sistema de células de fluxo

Considerando os resultados fornecidos pelo software *MicroMath Scientist*[®], foi constatado que o modelo monoexponencial foi o que melhor explicou o perfil de dissolução do fármaco puro e os perfis de liberação das formulações pertencentes ao sistema S3, conforme ilustrado na Figura 54.

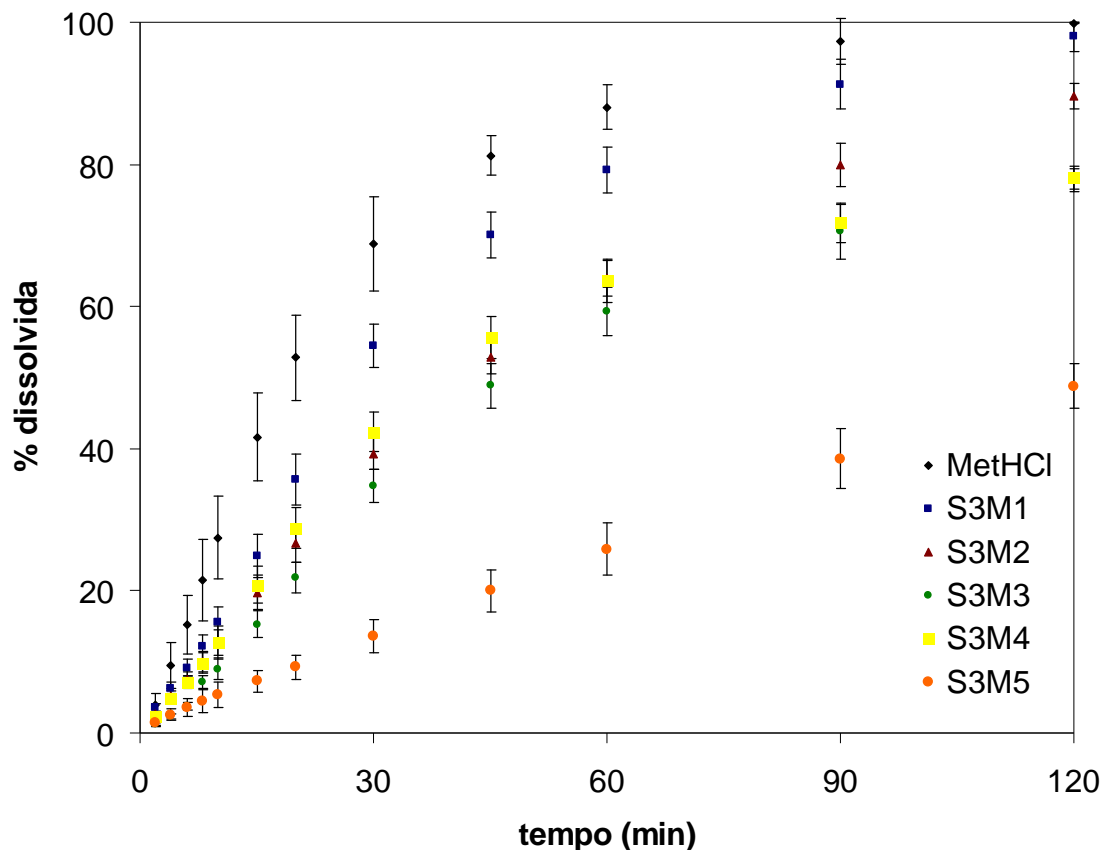


Figura 53 – Perfis de liberação *in vitro* do fármaco MetHCl e das formulações S3M1, S3M2, S3M3, S3M4 e S3M5 em fluido gástrico simulado (HCl 0,1 mol.L⁻¹), obtidos por meio do sistema de células de fluxo

Para o MetHCl puro (Figura 54 a), a equação monoexponencial indicou $r = 0,999$, $MSC = 5,05$ e constante cinética $k = 0,0355 \text{ min}^{-1}$. Considerando os materiais microparticulados, a equação monoexponencial forneceu o ajuste mais adequado, com valores de $r = 0,998$, $MSC = 4,30$ e $k = 0,0241 \text{ min}^{-1}$ para S3M1 (Figura 54 b), $r = 0,999$, $MSC = 5,86$ e $k = 0,0175 \text{ min}^{-1}$ para S3M2 (Figura 54 c), $r = 0,996$, $MSC = 4,94$ e $k = 0,0124 \text{ min}^{-1}$ para S3M3 (Figura 54 d), $r = 0,993$, $MSC = 3,80$ e $k = 0,0131 \text{ min}^{-1}$ para S3M4 (Figura 54 e) e $r = 0,998$, $MSC = 5,64$ e $k = 0,0055 \text{ min}^{-1}$ para S3M5 (Figura 54 f). Para o sistema S3, a equação biexponencial não revelou coerência nos valores encontrados para as constantes cinéticas de liberação ou resultou em um ajuste gráfico com porcentagens de dissolução negativas. A equação de ordem zero apresentou valores de r e MSC inferiores aos fornecidos pela equação monoexponencial.

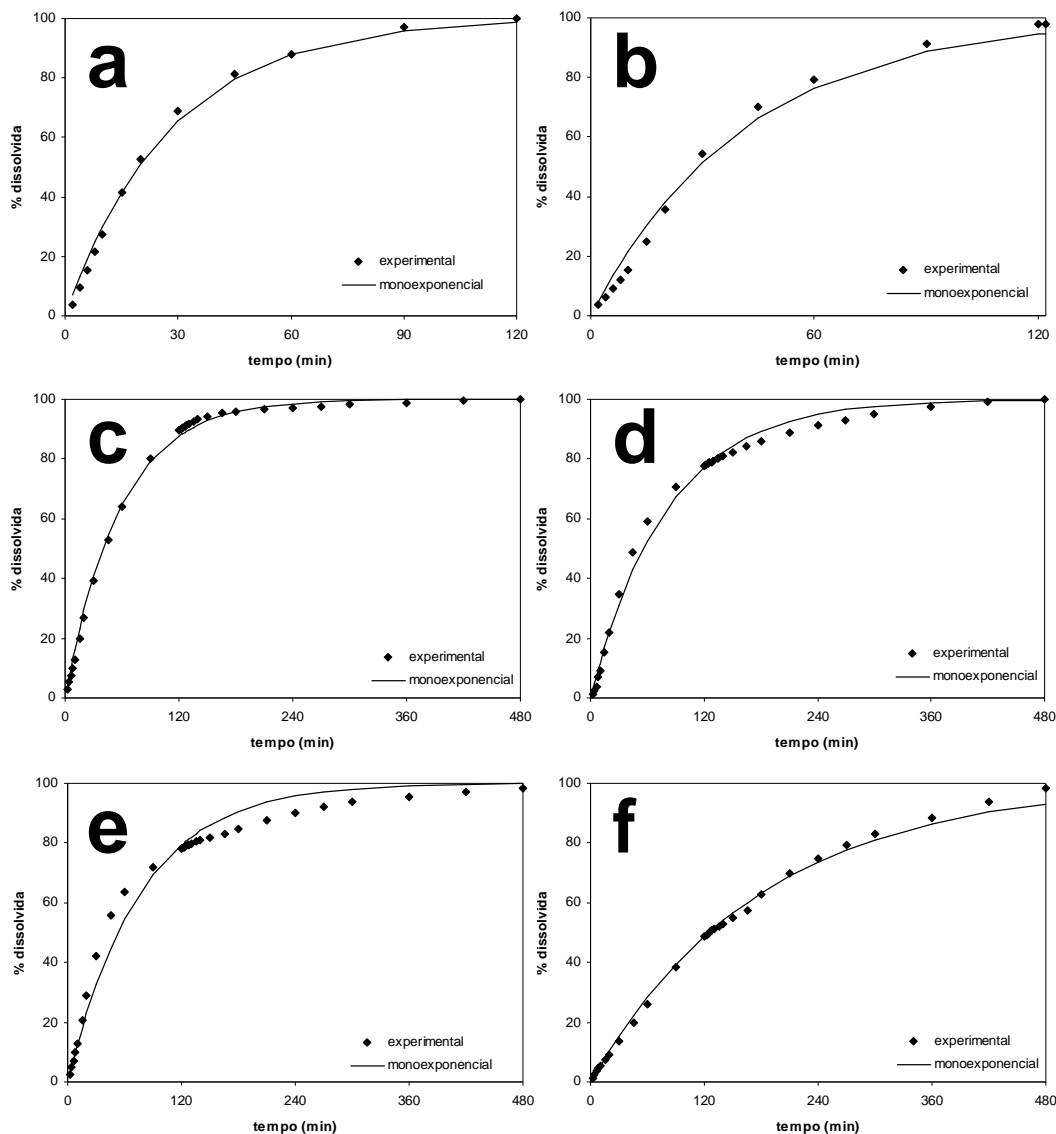


Figura 54 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para o MethHCl puro e para as micropartículas do sistema S3, com base na modelagem matemática a partir dos perfis de liberação *in vitro*; modelagem matemática da equação monoexponencial para o MethHCl puro (a) e para as formulações S3M1 (b), S3M2 (c), S3M3 (d), S3M4 (e) e S3M5 (f)

Esses resultados permitem afirmar que os materiais poliméricos utilizados para a microencapsulação foram efetivos na modificação do perfil de liberação do MethHCl, pois conduziram a uma redução no valor da constante cinética de liberação. Para o fármaco puro, a constante k foi igual a $0,0355 \text{ min}^{-1}$, enquanto que para as micropartículas, esse parâmetro variou entre $k = 0,0241 \text{ min}^{-1}$ (formulação S3M1) e $k = 0,0055 \text{ min}^{-1}$ (formulação S3M5).

A Figura 55 apresenta a modelagem matemática realizada para as micropartículas do sistema S3, segundo o modelo de Korsmeyer-Peppas.

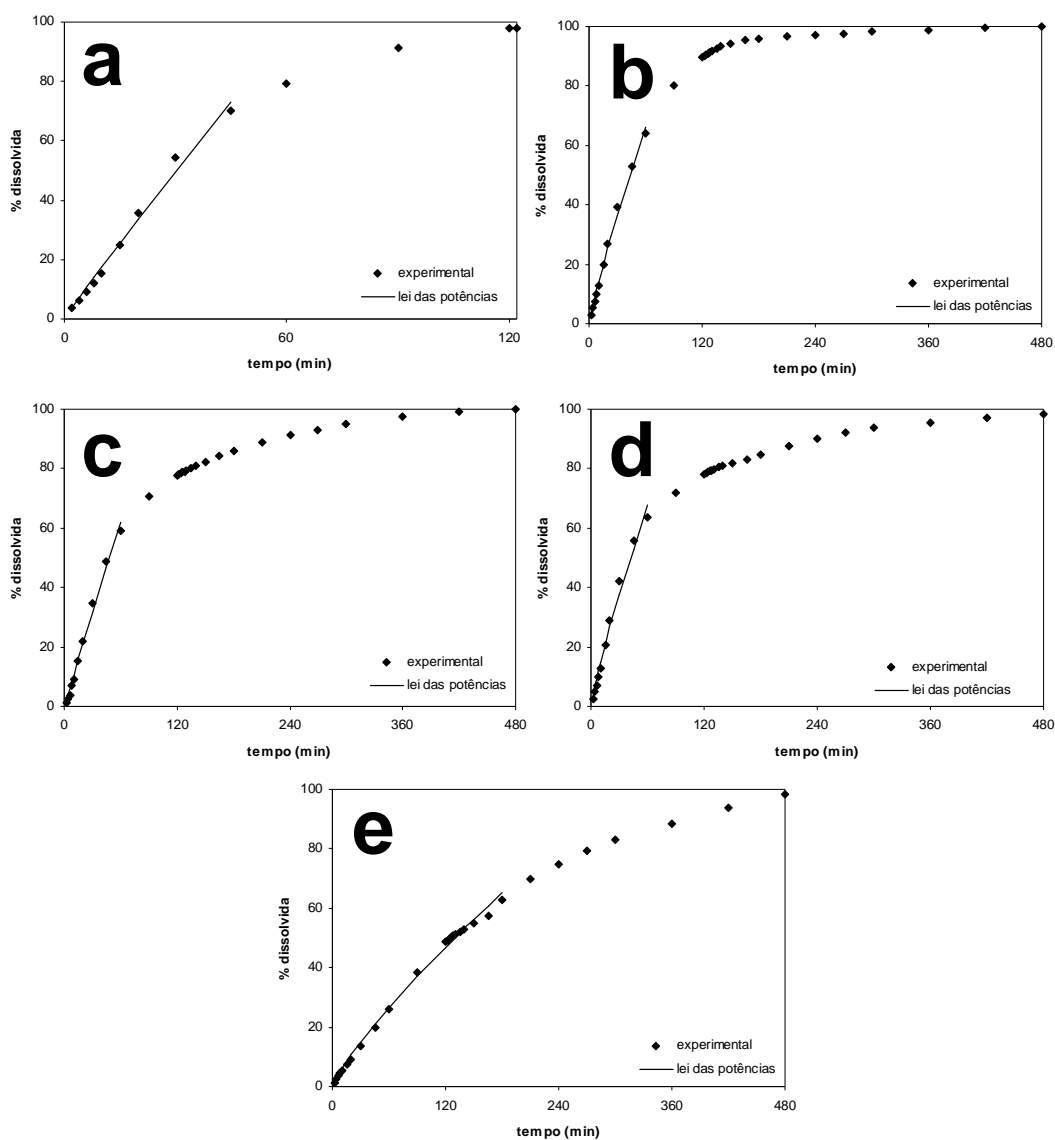


Figura 55 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais à modelagem matemática da equação de Korsmeyer-Peppas para as formulações S3M1 (a), S3M2 (b), S3M3 (c), S3M4 (d) e S3M5 (e)

Valores de n superiores a 0,85 foram obtidos para os produtos S3M1 ($n = 0,95$), S3M2 ($n = 0,86$) e S3M3 ($n = 0,98$). Considerando que os polímeros met(acrílicos) usados na preparação dessas micropartículas são insolúveis em meio HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (HAZNEDAR & DORTUNÇ, 2004; WU *et al.*, 2003; ESPOSITO *et al.*, 2002; KIBBE, 2000), o mecanismo de liberação do fármaco

pode ser explicado pela entrada do frente de água, com a formação de poros na estrutura polimérica e conseqüente remoção do MetHCl para o meio externo. Inclusive, por difratometria de raio-X foram verificados picos de cristalinidade do fármaco nessas micropartículas (Figuras 41 a 43), o que indica a presença de domínios do ativo na estrutura polimérica, reforçando a possibilidade da formação de poros nesses materiais, quando do contato com o meio de dissolução.

Para as micropartículas S3M4 e S3M5 foram observados valores de n de 0,84 e 0,81, respectivamente. Conforme SIEPMANN & PEPPAS (2001), quando a lei das potências indica valores entre 0,43 e 0,85, o mecanismo de liberação é denominado de transporte anômalo, podendo ser decorrente dos fenômenos de difusão Fickiana do fármaco, de degradação do polímero ou de entrada do frente de água nas micropartículas.

Dessa forma, as formulações do sistema S3 apresentaram rendimentos compatíveis aos descritos para o método de *spray-drying*, valores de eficiência de encapsulação elevados e modificação estatisticamente significativa do perfil de liberação do ativo em avaliação, o que permite propor que essas micropartículas têm emprego promissor como sistemas de liberação controlada do MetHCl.

4.4 SISTEMA S4: MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLORIDRATO DE METFORMINA, DESENVOLVIDAS PELO MÉTODO DE SECAGEM POR ASPERSÃO, A PARTIR DO SISTEMA RETICULADO CONSTITUÍDO POR POLI(ÁLCOOL VINÍLICO), β -CICLODEXTRINA E GLUTARALDEÍDO

Considerando a proposta de elaborar materiais diferenciados para a liberação modificada do MetHCl, foram obtidas, após a etapa de *spray-drying*, micropartículas baseadas no sistema reticulado constituído por PVAI, β -CD e GAI. Essas formulações resultaram em produtos com aspecto pulverulento, de coloração branca.

4.4.1 Rendimento

A Tabela 24 indica os valores de rendimento verificados para os materiais que compõem o sistema S4.

Tabela 24 – Rendimento* obtido para as formulações de S4M1 a S4M20, a partir do método de secagem por aspersão

Formulação	MetHCl inicial (g)	Rendimento (%)
S4M1	—	40,1
S4M2	—	43,3
S4M3	—	44,7
S4M4	—	43,5
S4M5	—	39,8
S4M6	—	32,2
S4M7	—	30,5
S4M8	—	40,6
S4M9	0,4580	46,1
S4M10	0,7730	42,8
S4M11	0,4810	47,3
S4M12	0,7970	45,1
S4M13	0,4580	42,4
S4M14	0,7730	38,9
S4M15	0,4810	36,0
S4M16	0,7970	39,5
S4M17	0,1660	23,4
S4M18	0,4520	40,4
S4M19	0,6860	43,0
S4M20	0,7670	40,2

* média (n = 2)

Foram verificados valores de rendimento compreendidos entre 23,4 % (formulação S4M17) e 47,3 % (formulação S4M11). Como apresentado no sistema S3, o método de *spray-drying* é um procedimento amplamente difundido para a obtenção de micropartículas voltadas à liberação modificada de fármacos, que possibilita a obtenção de materiais microparticulados, sem a necessidade de secagem posterior. Entretanto, em escala de laboratório, considerando a massa inicial de sólidos, a utilização ou não dos adjuvantes de secagem, a viscosidade das soluções/dispersões conduzidas à nebulização e as perdas durante o processo, rendimentos variando entre 30 % e 50 % são freqüentemente verificados na literatura para diferentes materiais poliméricos (BRUSCHI *et al.*, 2003; ESPOSITO *et al.*, 2002; GIBSON, 2001). Para o produto S3M17, o valor de rendimento de 23,4 % pode ser justificado pela presença de um menor teor de sólidos na formulação (Tabela 08) e pela provável formação de um produto mais reticulado, tornando a dispersão mais agregada e dificultando o processo de secagem por aspersão.

4.4.2 Eficiência de encapsulação

4.4.2.1 Validação do método analítico para a quantificação do MetHCl presente nas micropartículas do sistema S4

A linearidade do método analítico à quantificação do ativo incorporado nas formulações do sistema S4 foi comprovada a partir da obtenção do coeficiente de correlação (r) médio superior a 0,999 (Figura 56), após a elaboração das três curvas analíticas, na faixa de 1 a 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, ensaiadas em metanol. Com base nos dados do estudo de linearidade e, empregando as Equações 6 e 7, foram calculados os valores de 0,16695 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o limite de detecção e de 0,50135 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o limite de quantificação.

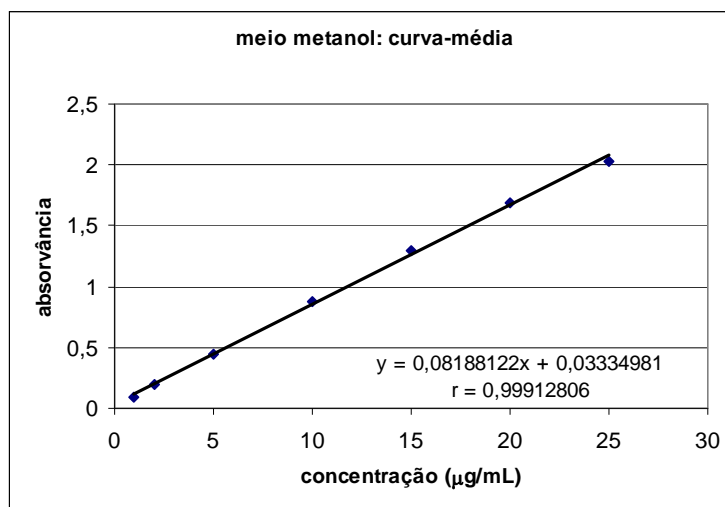


Figura 56 – Representação gráfica da curva analítica padrão para determinação do MetHCl obtida por espectrofotometria UV-Vis ($\lambda = 238 \text{ nm}$), em metanol

Os resultados de repetibilidade e de precisão intermediária (Tabela 25), expressos em termos de desvio padrão relativo (DPR), revelaram valores menores que 5%, atendendo ao preconizado pela legislação (ANVISA, 2003).

Em termos de exatidão, o método permitiu a recuperação de 97,51 % para a concentração final de 12 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 99,34 % para 15 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 103,08 % para 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo possível considerar o mesmo exato, conforme o ICH (1996) e a ANVISA (2003).

Tabela 25 – Valores experimentais obtidos nos ensaios de repetibilidade e de precisão intermediária

Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	DPR dia 1 (%)	DPR dia 2 (%)	DPR dia 3 (%)	Média (%)
4	3,47			
12	2,31	2,66	2,19	2,39
22	2,76			
Média (%)	2,85			

4.4.2.2 Taxa de recuperação do MetHCl presente nas micropartículas

O teor de fármaco nas micropartículas obtidas por *spray-drying* envolve o fármaco encapsulado, o fármaco adsorvido no interior de cavidades e o fármaco parcialmente ou não encapsulado (RATTES & OLIVEIRA, 2007). No presente estudo, as formulações contendo o MetHCl revelaram teores de incorporação entre $97,04 \pm 0,56 \text{ mg.g}^{-1}$ (formulação S4M20) e $109,13 \pm 0,22 \text{ mg.g}^{-1}$ (formulação S4M17), o que corresponde, respectivamente, a uma variação da eficiência de encapsulação de 97,0 a 109,1 % (Tabela 26).

Tabela 26 – Teor¹ e eficiência de encapsulação² do MetHCl nas micropartículas do sistema S4

Formulação	MetHCl incorporado (mg.g^{-1})	Eficiência de encapsulação (%)
S4M9	$102,55 \pm 1,16$	102,6
S4M10	$100,76 \pm 1,43$	100,8
S4M11	$101,17 \pm 1,96$	101,2
S4M12	$101,32 \pm 0,85$	101,3
S4M13	$98,66 \pm 1,41$	98,7
S4M14	$98,35 \pm 1,49$	98,4
S4M15	$104,84 \pm 1,35$	104,8
S4M16	$100,69 \pm 0,65$	100,7
S4M17	$109,13 \pm 0,22$	109,1
S4M18	$102,99 \pm 0,68$	103,0
S4M19	$101,08 \pm 1,37$	101,1
S4M20	$97,04 \pm 0,56$	97,0

¹ média (n = 3) \pm desvio padrão

² média (n = 3)

A partir do método de secagem por aspersão, BILLON *et al.* (2000) desenvolveram micropartículas contendo paracetamol com eficiência de encapsulação entre 97,4 e 103,5 %. RAFFIN *et al.* (2006b) produziram micropartículas contendo pantoprazol sódico sesquidratado apresentando valores de eficiência de incorporação entre 88,1 e 100,1 %. Dessa forma, a maioria dos

resultados verificados para as micropartículas que formam o sistema S4 está de acordo com a literatura. Ainda assim, considerando que o método analítico foi criteriosamente validado e que os dados de desvio padrão obtidos na quantificação do fármaco incorporado foram relativamente baixos, os valores superiores a 100 % para a eficiência de encapsulação podem estar relacionados à possível perda de material polimérico reticulado durante o procedimento de secagem por aspersão, elevando a concentração do ativo nos produtos resultantes.

4.4.3 Determinação do teor de umidade

Valores de umidade compreendidos entre 4,76 % (formulação S4M7) e 6,40 % (formulação S4M10) foram observados para os materiais poliméricos do sistema S4, conforme sintetizado na Tabela 27.

Tabela 27 – Teor de água¹ verificado para as micropartículas do sistema S4

Material	Umidade (%)
S4M1	5,82
S4M2	5,88
S4M3	4,95
S4M4	5,47
S4M5	5,53
S4M6	5,60
S4M7	4,76
S4M8	4,91
S4M9	6,25
S4M10	6,40
S4M11	5,41
S4M12	5,67
S4M13	5,82
S4M14	5,98
S4M15	5,19
S4M16	5,24
S4M17	5,33
S4M18	5,48
S4M19	5,77
S4M20	5,94

¹ média (n = 2)

Esses valores, de forma geral, estão de acordo com os resultados apontados por outros pesquisadores. BOSQUILLON *et al.* (2004) elaboraram, por meio do processo de *spray-drying*, pós para a administração pulmonar de proteínas. As

formulações contendo albumina, dipalmitoilfosfatidilcolina e diferentes carboidratos (α -lactose monoidratada, D-manitol ou D-tealose diidratada) revelaram valores de umidade entre 5,0 e 6,5 %. Dessa forma, é possível propor que a presença do PVAI e da β -CD favorece uma maior retenção de água nos materiais microparticulados, quando comparados com os produtos do sistema S3, provavelmente pela formação de ligações de hidrogênio entre a água e os grupos hidroxila presentes nas estruturas químicas desses compostos.

4.4.4 Análises morfológicas e de superfície

A avaliação morfológica das partículas do sistema S4, realizada por MEV, está ilustrada nas Figuras 51 e 52. Foi possível verificar que os materiais apresentaram formato esférico, com a presença, em sua maioria, de concavidades na superfície. Como foi mencionado no item 4.3.4, a existência de concavidades é uma ocorrência freqüente nos produtos formados por *spray-drying*, independente da presença de fármacos. Entretanto, quando essa observação morfológica é confrontada com as condições de reação estabelecidas na Tabela 08, é oportuno sugerir que os produtos elaborados com a maior quantidade de GAI (1,0 mL ou 2,65 mmol) revelaram estruturas nitidamente mais colabadas do que aqueles resultantes do emprego do GAI em menor quantidade (0,2 mL ou 0,53 mmol). As formulações S4M3 (Figura 57 c), S4M15 (Figura 58 e) e S4M18 (Figura 58 h) apresentaram um aspecto fundido. Para esses materiais, as reações foram conduzidas utilizando, além da maior quantidade de GAI (1,0 mL ou 2,65 mmol), a menor quantidade de β -CD (2,8375 g ou 2,5 mmol). As formulações S4M7 (Figura 57 g) e S4M11 (Figura 58 a), experimentos nos quais esses parâmetros foram também aplicados, não indicaram a formação de sistemas fundidos, o que não exclui essa hipótese, uma vez que a análise por MEV avalia campos específicos da amostra. Além disso, no material S4M18, obtido na ausência do PVAI, foi constatada a presença de cristais do MetHCl não encapsulados (Figura 58 h). Esse fato denota a importância da presença do polímero na microencapsulação do fármaco, sobretudo quando o material foi submetido a uma maior reticulação, em presença de menor quantidade de β -CD.

As Figuras 59 a 67 representam os resultados obtidos por difratometria de raio-X para os materiais microparticulados do sistema S4.

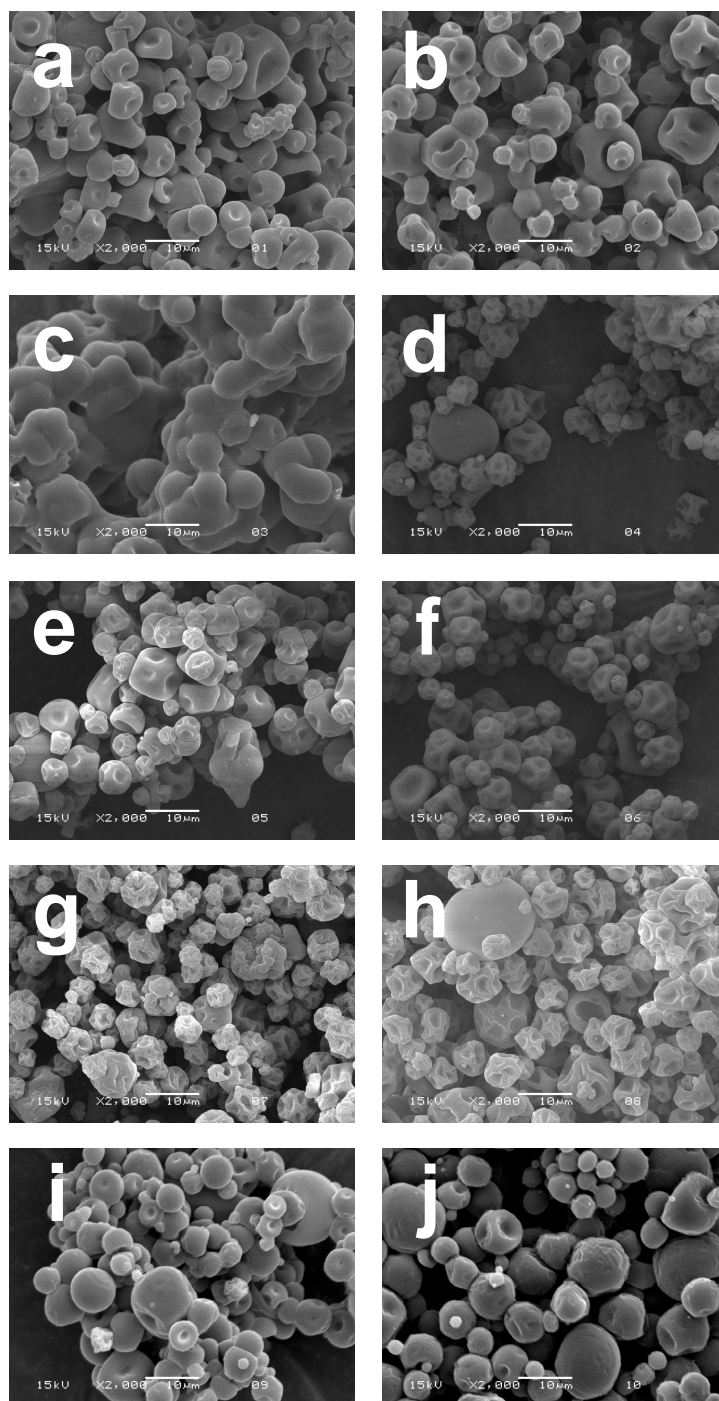


Figura 57 – Aspectos morfológicos, revelados por MEV, para as micropartículas do sistema S4, S4M1 (a), S4M2 (b), S4M3 (c), S4M4 (d), S4M5 (e), S4M6 (f), S4M7 (g), S4M8 (h), S4M9 (i) e S4M10 (j)

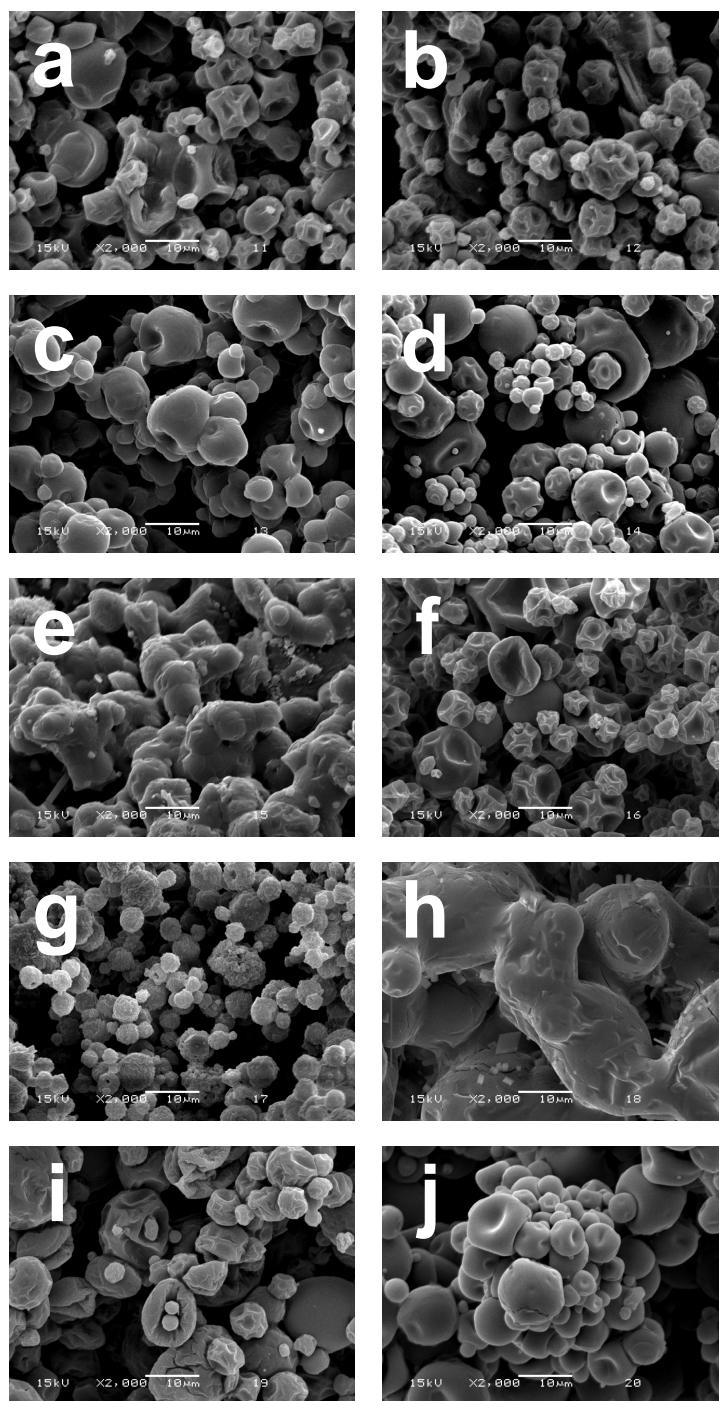


Figura 58 – Aspectos morfológicos, obtidos por MEV, para as micropartículas do sistema S4, S4M11 (a), S4M12 (b), S4M13 (c), S4M14 (d), S4M15 (e), S4M16 (f), S4M17 (g), S4M18 (h), S4M19 (i) e S4M20 (j)

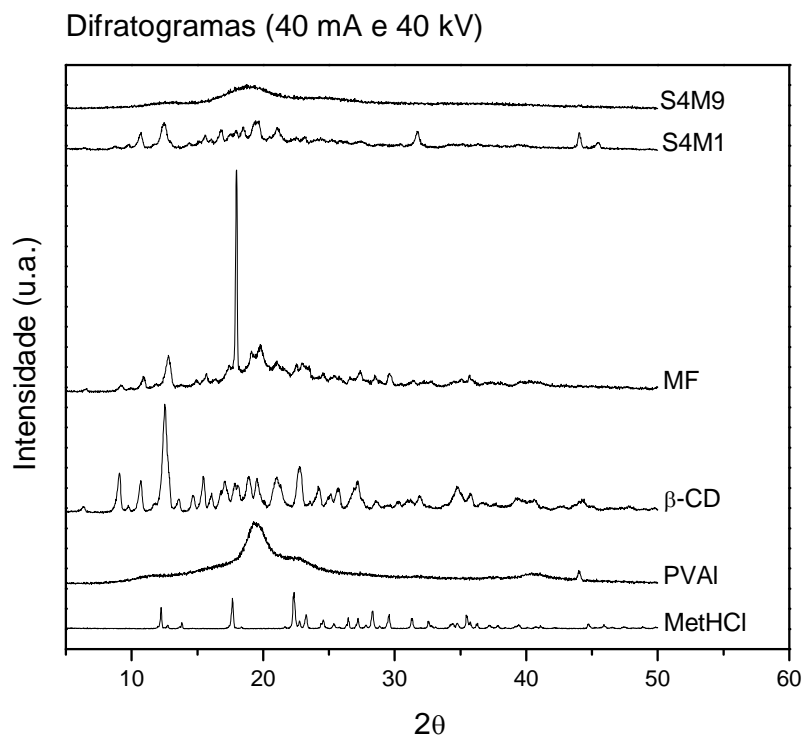


Figura 59 – Difratogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M1 e S4M9 que integram o sistema S4

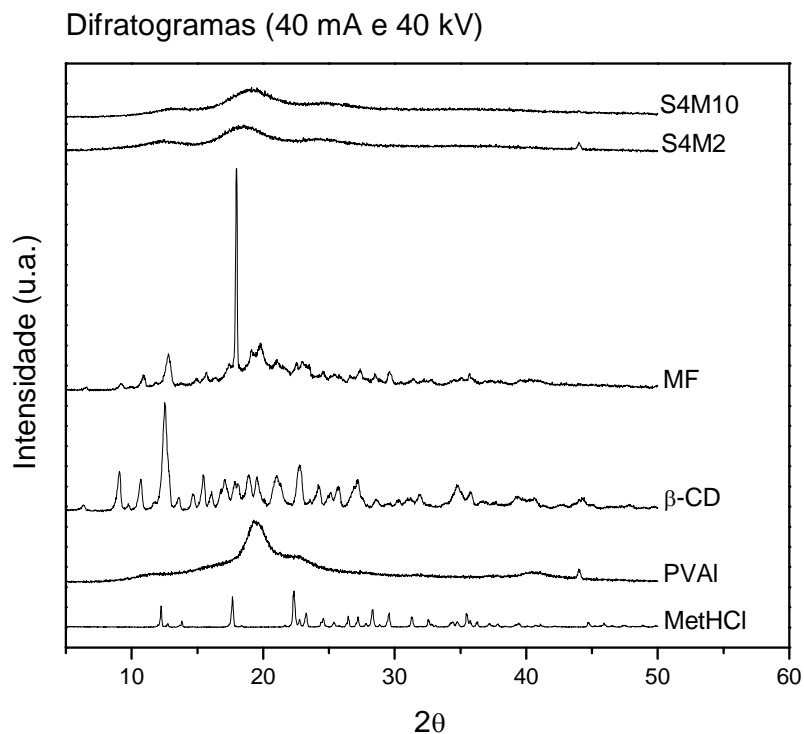


Figura 60 – Difratogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M2 e S4M10 que compõem o sistema S4

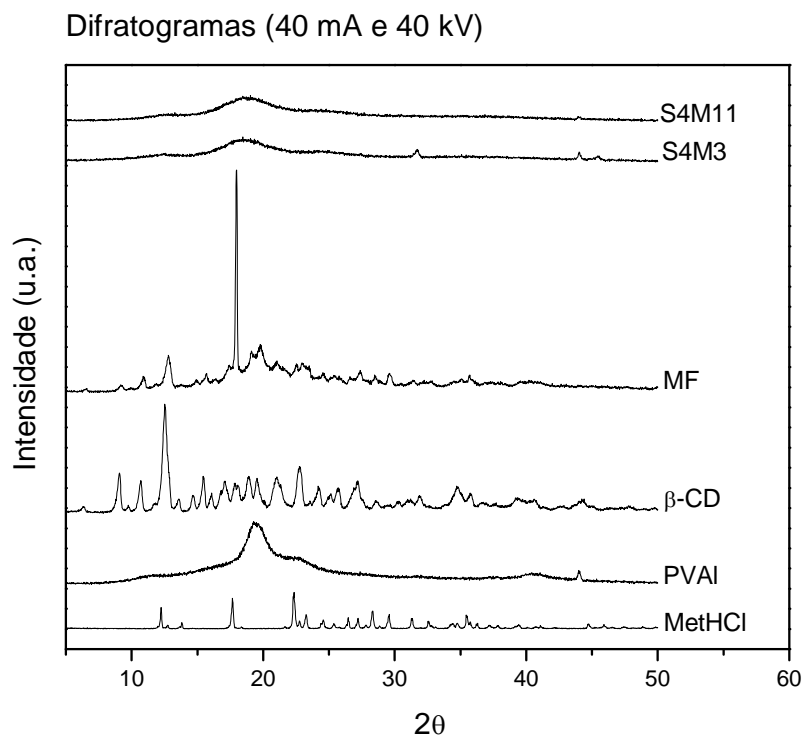


Figura 61 – Difratogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M3 e S4M11 que formam o sistema S4

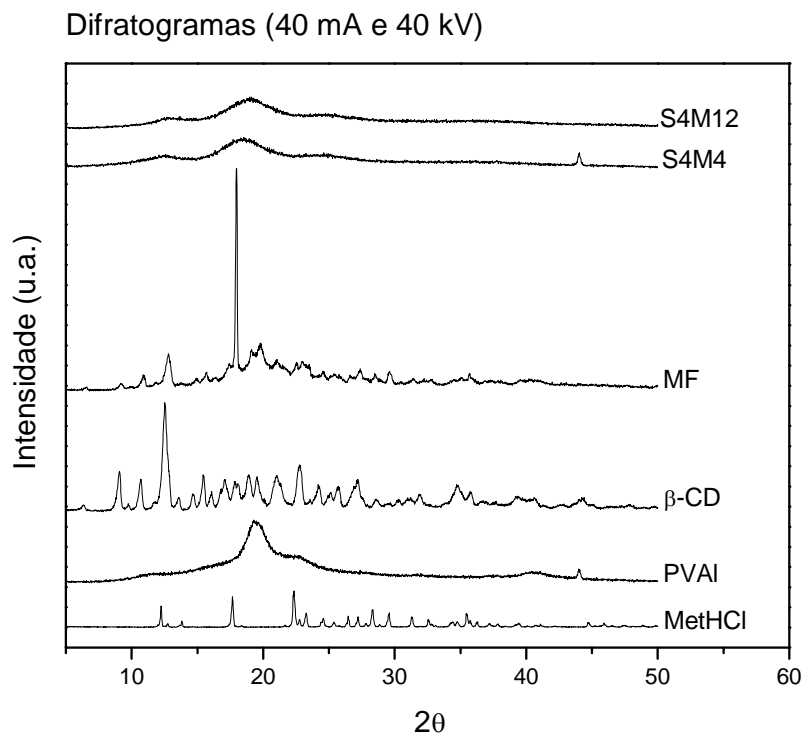


Figura 62 – Difratogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M4 e S4M12 que constituem o sistema S4

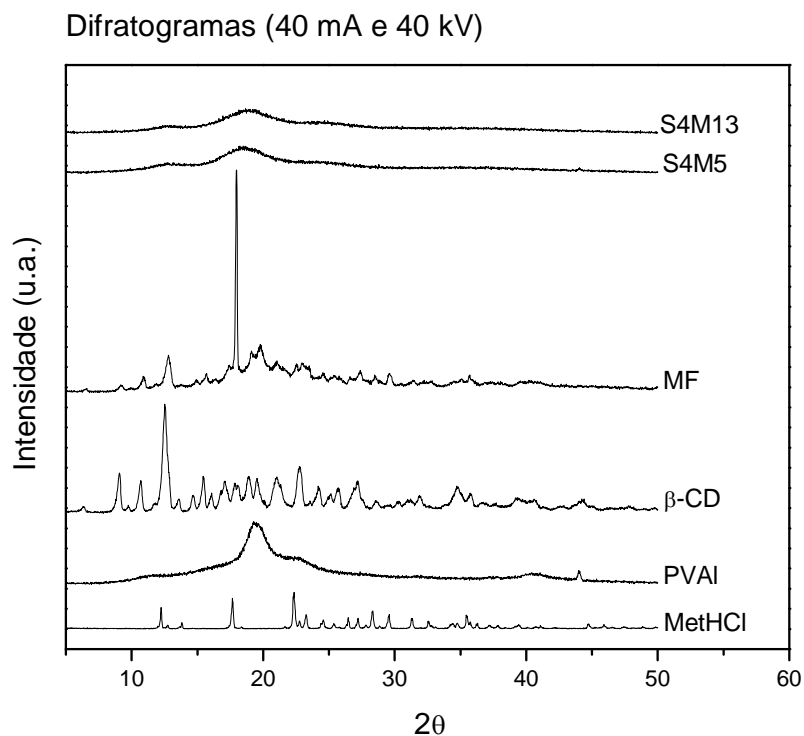


Figura 63 – Difratogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M5 e S4M13 que fazem parte do sistema S4

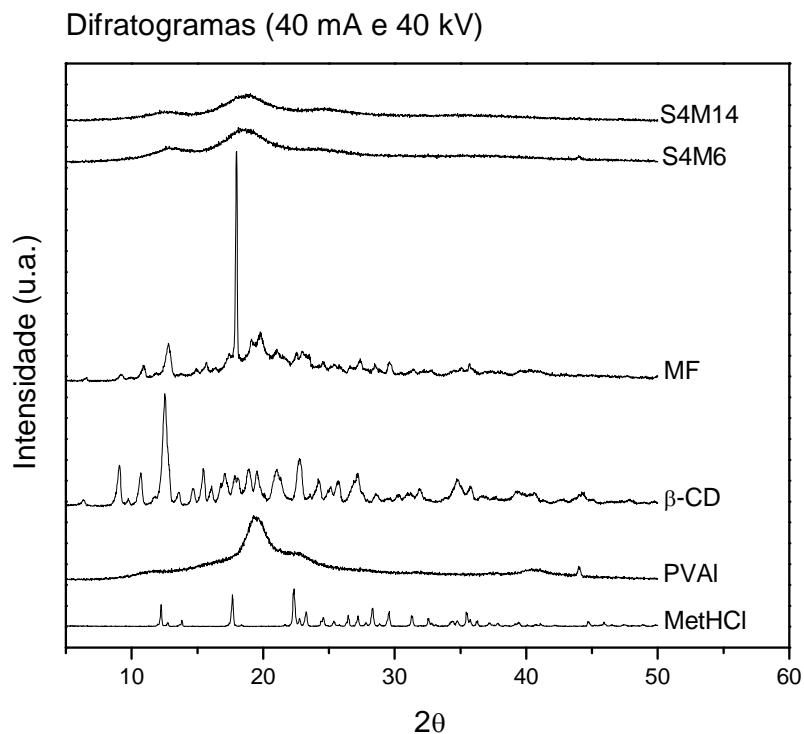


Figura 64 – Difratogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M6 e S4M14 que integram o sistema S4

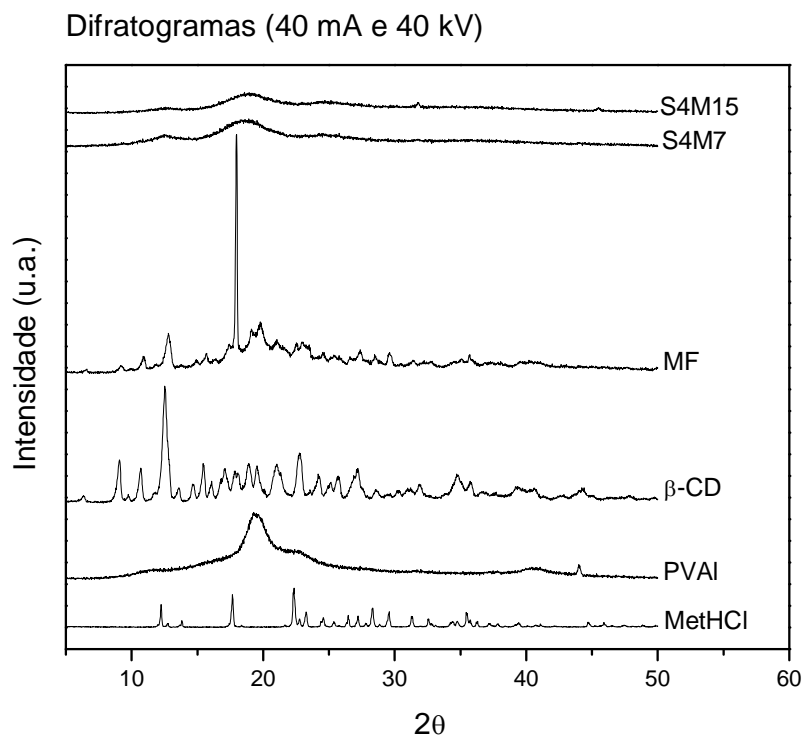


Figura 65 – Difratogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M7 e S4M15 que compõem o sistema S4

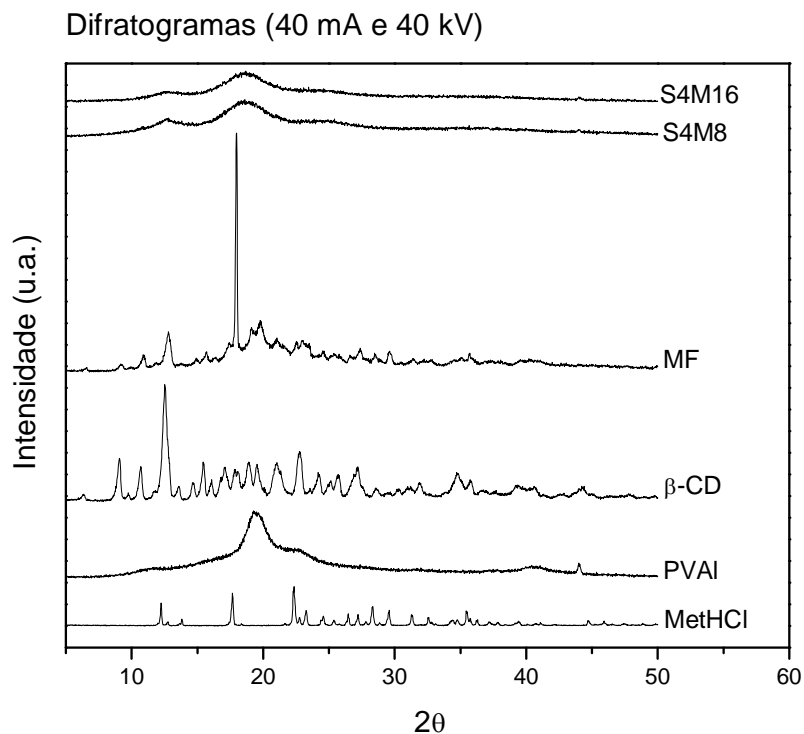


Figura 66 – Difratogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M8 e S4M16 que formam o sistema S4

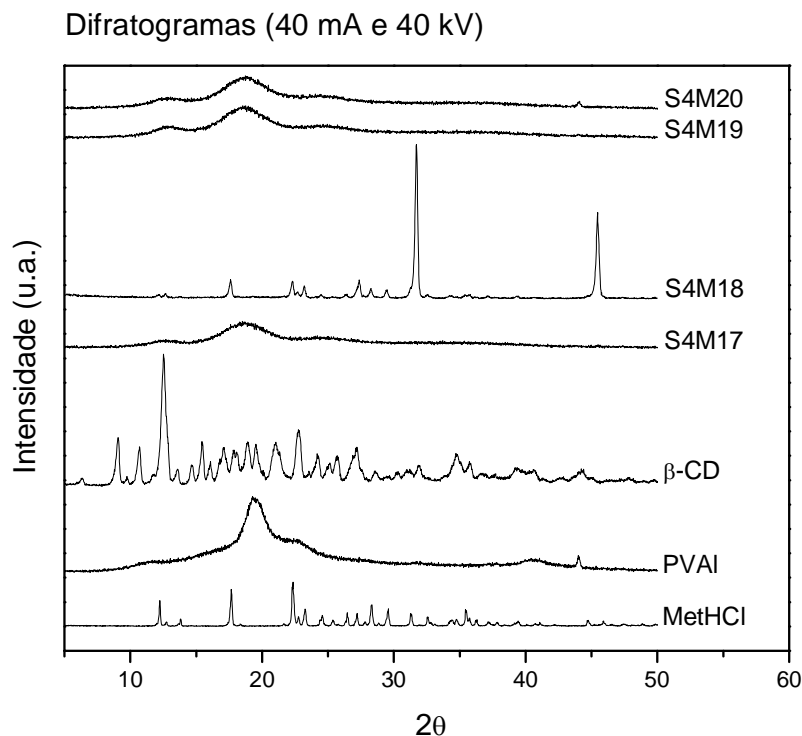


Figura 67 – Difratogramas do MetHCl, do PVAI, da β -CD e das micropartículas S4M17, S4M18, S4M19 e S4M20 que constituem o sistema S4

Considerando os difratogramas das micropartículas elaboradas na presença do fármaco, formulações de S4M9 a S4M16, foi constatada uma redução da cristalinidade em relação aos picos de cristalinidade assinalados para a mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD) e para os materiais de partida. Esses resultados permitem afirmar que os produtos têm um caráter mais amorfo e que o ativo está, principalmente, em dispersão molecular nos sistemas microparticulados.

Comparando os difratogramas das formulações controle (de S4M1 a S4M8), com os obtidos para o PVAI, para a β -CD e para a mistura física, também foi verificada uma diminuição da cristalinidade. Entretanto, alguns picos indicativos de cristalinidade, atribuídos à β -CD, podem ser visualizados. A formulação S4M1 (Figura 59), que apresentou as 3 variáveis no nível negativo, β -CD = 2,8375 g (2,5 mmol), GAI = 0,2 mL (0,53 mmol) e H₂O Milli-Q® = 200 mL, foi a que revelou o maior número de picos de cristalinidade da β -CD. Dessa forma, é possível sugerir que, em presença de maior volume de meio reacional e de menor quantidade de agente de reticulação, parte da β -CD ficou sem reagir e que o PVAI formou um sistema menos reticulado nessas condições experimentais, o que permitiu a

formação de domínios cristalinos da β -CD no material, quando da preparação das micropartículas pelo método de secagem por aspersão.

A formulação S4M18 (Figura 67) apresentou alguns picos de cristalinidade imputados ao MetHCl não encapsulado, presente na superfície do material, conforme foi observado por MEV (Figura 58 h).

4.4.5 Determinação do tamanho de partícula e da dispersão granulométrica

A Tabela 28 e as Figuras 68 e 69 compilam as informações referentes à avaliação granulométrica efetuada para os produtos do sistema S4.

Tabela 28 – Diâmetro médio e $span^1$ (dispersão granulométrica) para as micropartículas do sistema S4, indicando o teor² de MetHCl incorporado em cada material

Formulação	MetHCl incorporado (mg.g⁻¹)	Diâmetro médio (μm)	Span
S4M1	—	33,30	1,51
S4M2	—	30,90	1,70
S4M3	—	79,20	3,52
S4M4	—	9,80	1,88
S4M5	—	8,72	1,88
S4M6	—	8,15	1,77
S4M7	—	76,69	12,12
S4M8	—	9,31	1,46
S4M9	102,55 \pm 1,16	16,93	1,84
S4M10	100,76 \pm 1,43	10,24	1,15
S4M11	101,17 \pm 1,96	56,74	11,67
S4M12	101,32 \pm 0,85	8,17	1,49
S4M13	98,66 \pm 1,41	13,10	1,77
S4M14	98,35 \pm 1,49	7,64	2,02
S4M15	104,84 \pm 1,35	83,45	6,87
S4M16	100,69 \pm 0,65	7,58	1,74
S4M17	109,13 \pm 0,22	6,87	1,86
S4M18	102,99 \pm 0,68	143,62	2,37
S4M19	101,08 \pm 1,37	121,11	2,87
S4M20	97,04 \pm 0,56	25,15	2,66

¹ calculado a partir do diâmetro das partículas correspondente a 90 %, 10 % e 50 % da distribuição acumulada para cada amostra

² média (n = 3) \pm desvio padrão

Em função da formação de aglomerados e de estruturas fundidas, foram verificados valores bem diversos para o diâmetro médio e para a distribuição de tamanho, quando os materiais do sistema S4 foram comparados entre si.

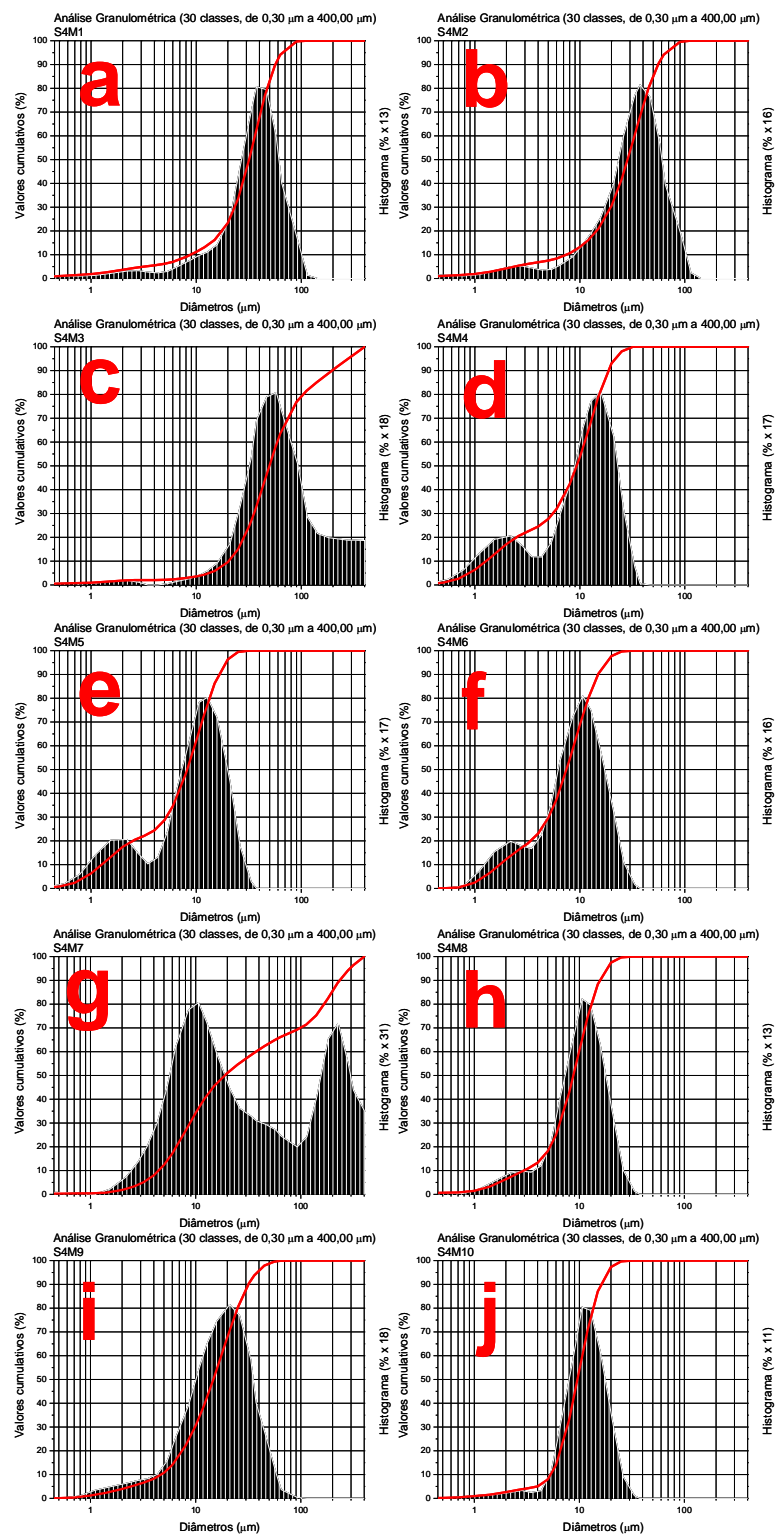


Figura 68 – Distribuição granulométrica obtida para as micropartículas do sistema S4, S4M1 (a), S4M2 (b), S4M3 (c), S4M4 (d), S4M5 (e), S4M6 (f), S4M7 (g), S4M8 (h), S4M9 (i) e S4M10 (j)

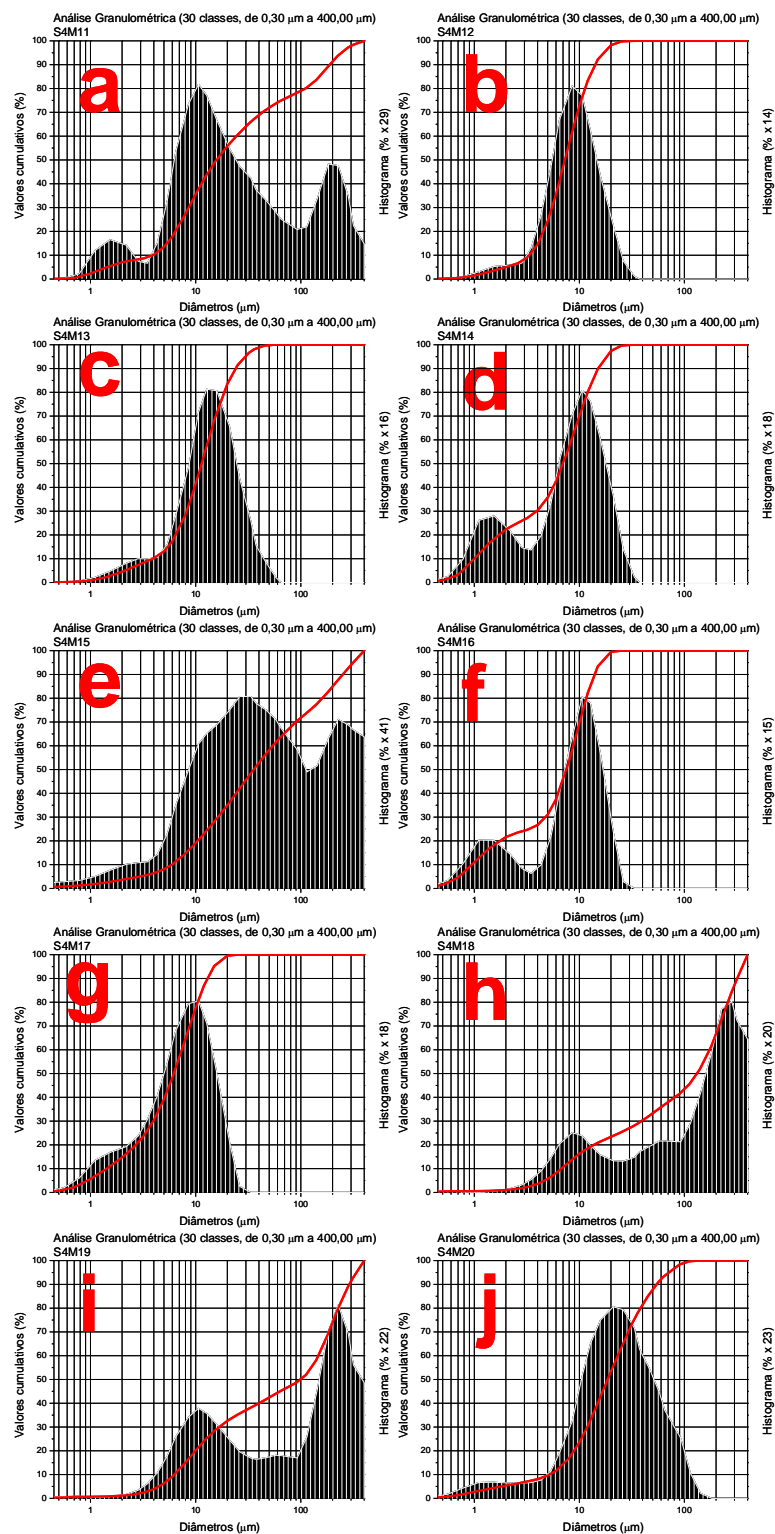


Figura 69 – Distribuição granulométrica verificada para as micropartículas do sistema S4, S4M11 (a), S4M12 (b), S4M13 (c), S4M14 (d), S4M15 (e), S4M16 (f), S4M17 (g), S4M18 (h), S4M19 (i) e S4M20 (j)

As formulações S4M1, S4M2, S4M8, S4M9, S4M10, S4M12, S4M13, S4M17 e S4M20 mostraram distribuições granulométricas do tipo monomodal. As partículas S4M4, S4M5, S4M6, S4M14, S4M16 apresentaram distribuições de tamanho do tipo bimodal, sugerindo a formação de duas populações durante a análise por espectrometria de difração a laser, compostas pelas partículas isoladas e pelos aglomerados. Segundo BILLON *et al.* (2000) a tendência de formação de aglomerados conduz à redução da área superficial do material, o que pode influenciar na liberação do fármaco, quando as partículas são expostas ao meio de dissolução.

Entretanto, os materiais S4M3, S4M7, S4M11, S4M15, S4M18 e S4M19 revelaram distribuições granulométricas bem irregulares, com tendência à obtenção de partículas com tamanho superior a 400 μm . Esse fato pode ser justificado pela presença de estruturas fundidas, resultantes do processo de reticulação. Para as formulações S4M3, S4M7, S4M11 e S4M15, as reações foram desenvolvidas com a maior quantidade de GAI (1,0 mL ou 2,65 mmol) e a menor quantidade de β -CD (2,8375 g ou 2,5 mmol). Os experimentos S4M18 e S4M19 foram feitos na ausência do PVAI, empregando maior quantidade de GAI (1,0 mL ou 2,65 mmol) e quantidades de β -CD, respectivamente de 2,8375 g (2,5 mmol) e de 5,6750 g (5,0 mmol). Dessa forma, a avaliação granulométrica complementa as informações fornecidas por MEV, mostrando que os produtos S4M7, S4M11 e S4M19 apresentaram parte da sua massa constituída por partículas fundidas.

4.4.6 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros de IVTF referentes ao MetHCl, ao PVAI, a β -CD, à mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e às formulações do sistema S4 estão representados nas Figuras 70 a 78.

As micropartículas contendo o fármaco, produtos de S4M9 a S4M16, revelaram bandas muito semelhantes, diferindo apenas na intensidade relativa dos sinais. Essa mesma verificação foi feita para as formulações controle, de S4M1 a S4M8. Para todos os materiais, foi observada a intensificação de uma banda em 1258 cm^{-1} que, conforme relatado na literatura por PENG *et al.* (2006), é correspondente à presença de grupamentos hemiacetais ou acetais compondo a

estrutura dos produtos, o que indica a formação de uma ligação química entre PVAI-GAI, β -CD-GAI ou ainda, PVAI-GAI- β -CD.

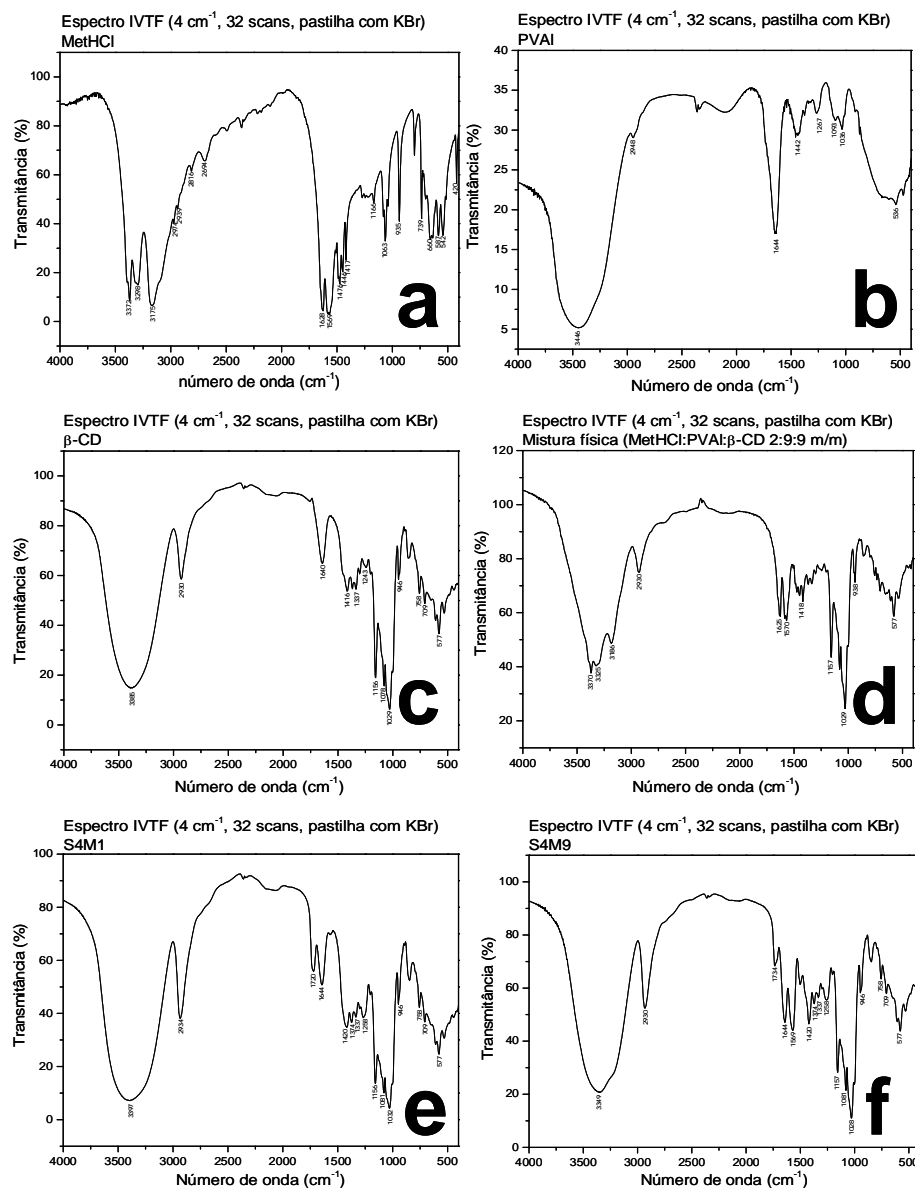


Figura 70 – Espectros IVTF do MethCl (a), do PVAI (b), da β -CD (c), da mistura física (MethCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) (d) e das micropartículas S4M1 (e) e S4M9 (f)

Além disso, foi verificada a presença de uma banda em 1569 cm^{-1} nas partículas de S4M9 a S4M16. Esse assinalamento pode ser atribuído às vibrações de deformação angular da ligação N-H, encontrada no MethCl (Figura 70 a). Nas outras regiões dos espectros de IVTF obtidos para as formulações contendo o fármaco, foi constatada uma maior contribuição das bandas de absorção dos materiais de partida, PVAI e β -CD.

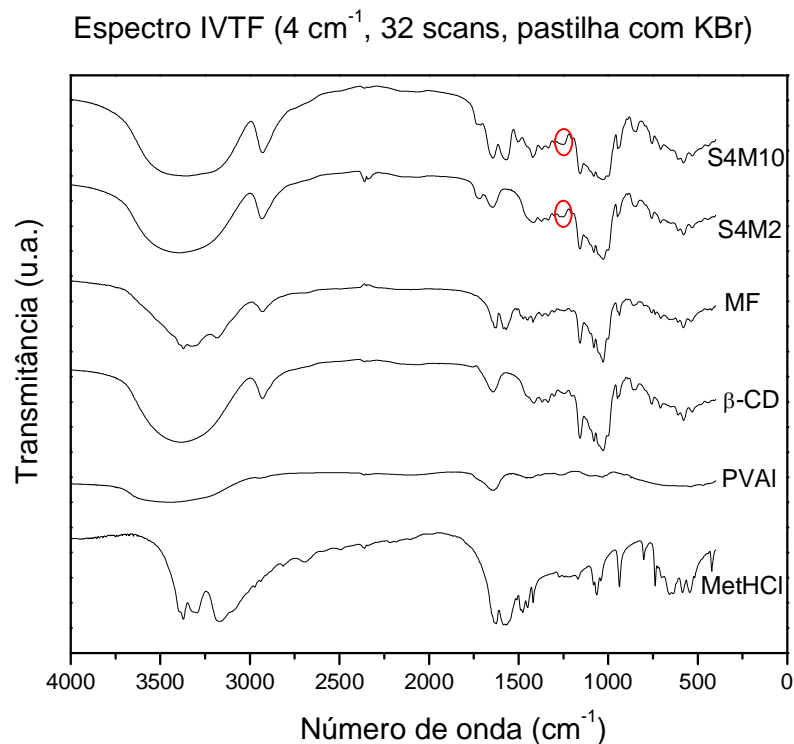


Figura 71 – Espectros IVTF do MethHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MethHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M2 e S4M10 que compõem o sistema S4

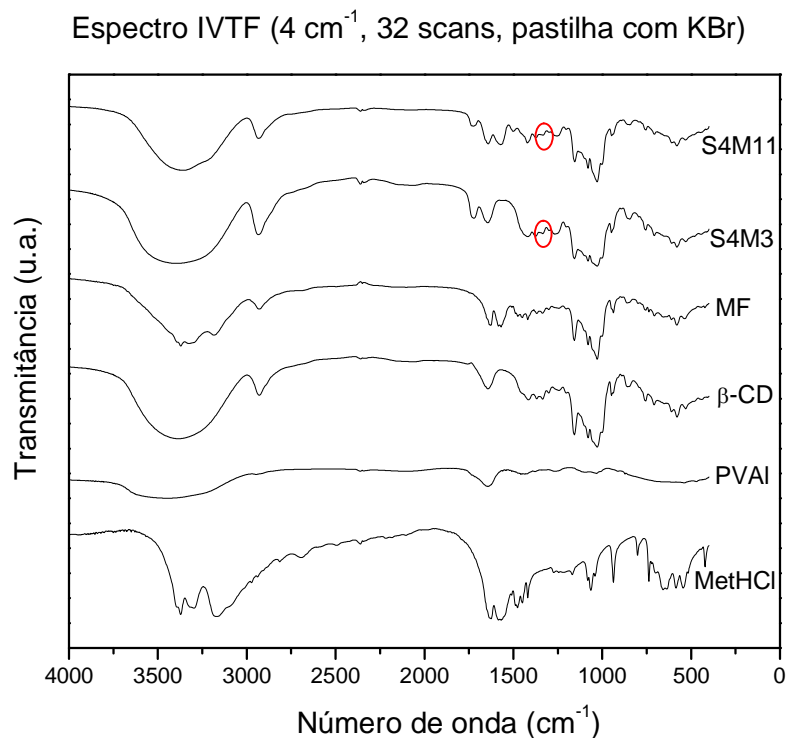


Figura 72 – Espectros IVTF do MethHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MethHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M3 e S4M11 que formam o sistema S4

Espectro IVTF (4 cm^{-1} , 32 scans, pastilha com KBr)

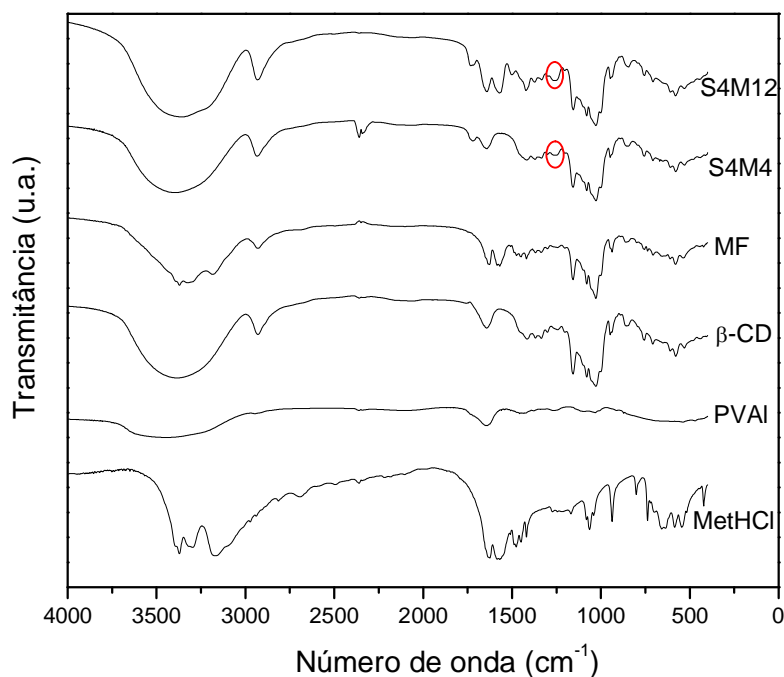


Figura 73 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M4 e S4M12 que constituem o sistema S4

Espectro IVTF (4 cm^{-1} , 32 scans, pastilha com KBr)

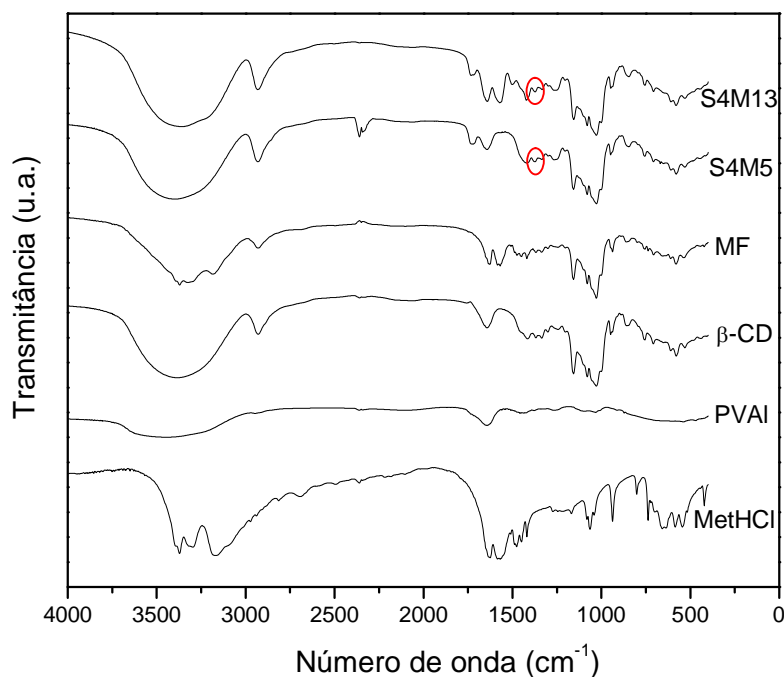


Figura 74 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M5 e S4M13 que fazem parte do sistema S4

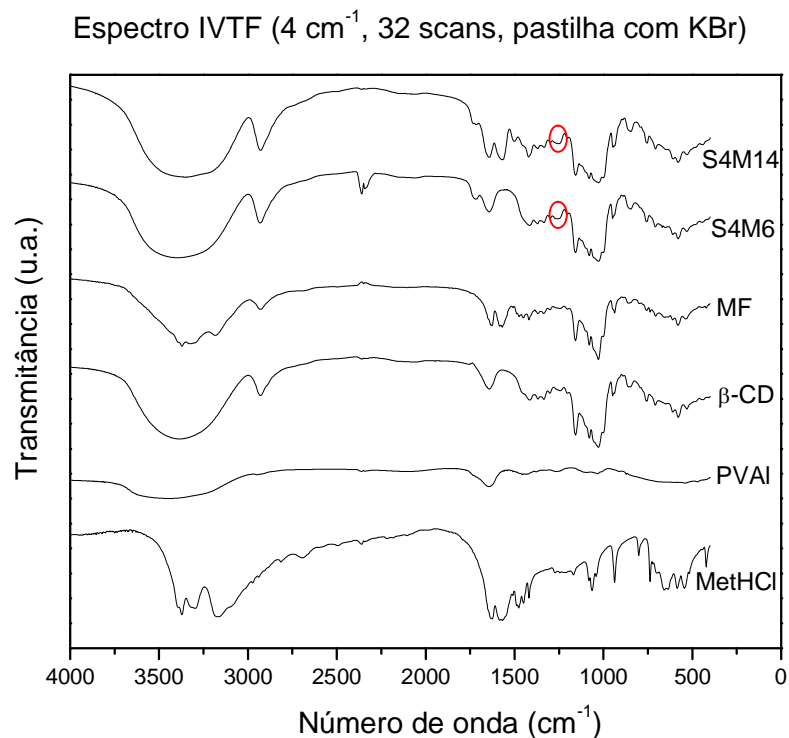


Figura 75 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M6 e S4M14 que integram o sistema S4

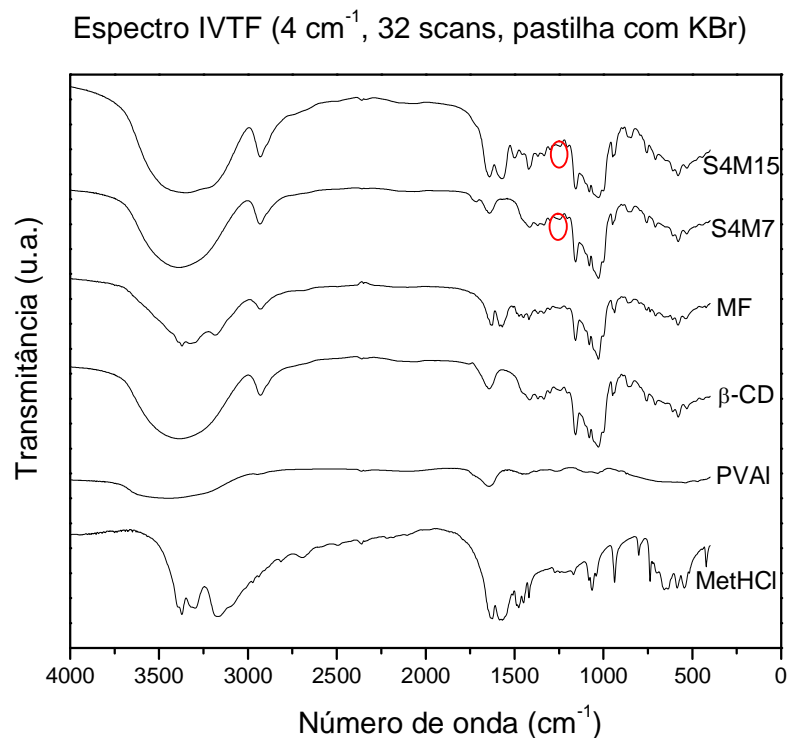


Figura 76 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M7 e S4M15 que compõem o sistema S4

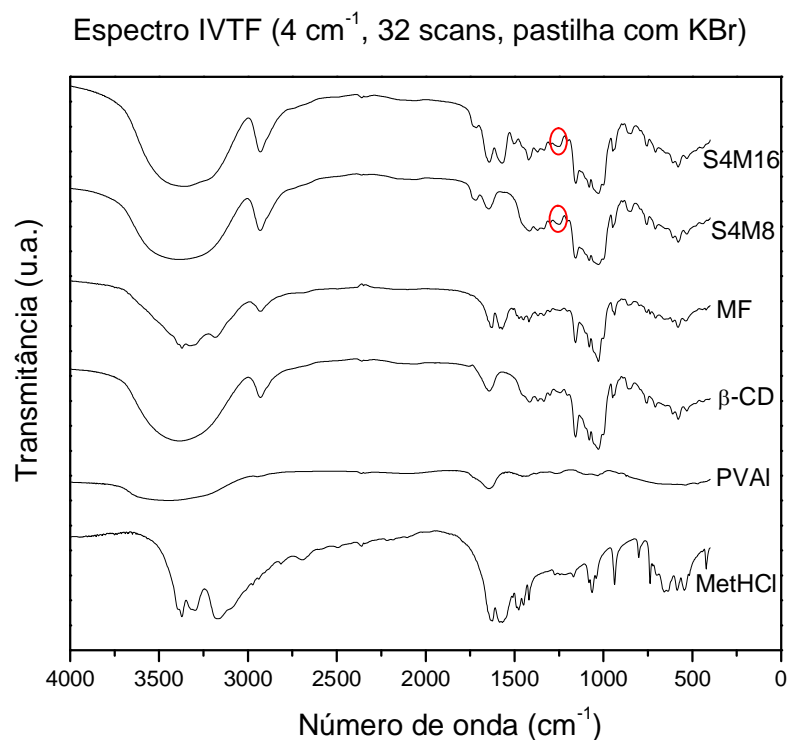


Figura 77 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD, da mistura física (MetHCl:PVAI: β -CD, 2:9:9 m/m) e das micropartículas S4M8 e S4M16 que formam o sistema S4

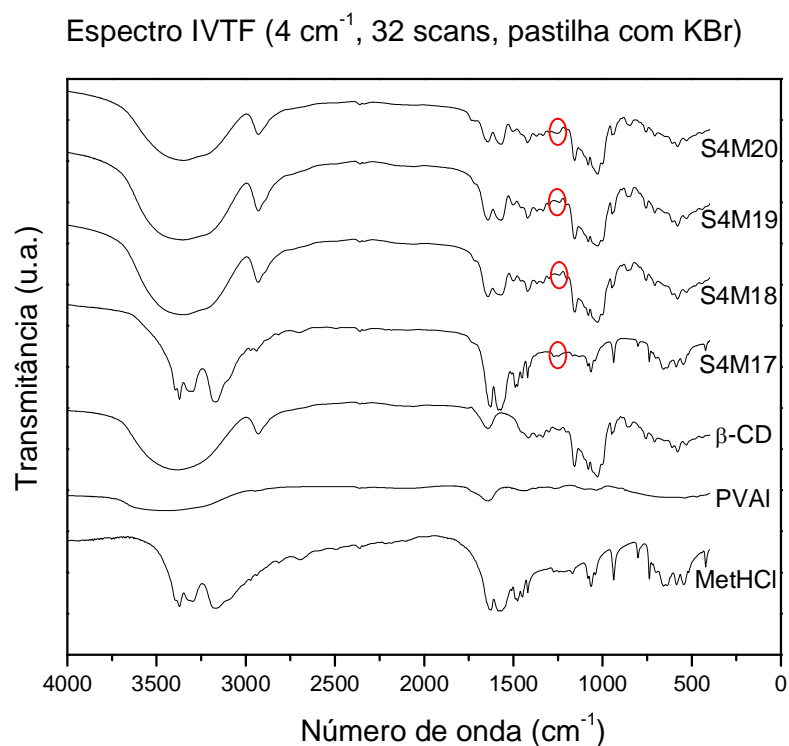


Figura 78 – Espectros IVTF do MetHCl, do PVAI, da β -CD e das micropartículas S4M17, S4M18, S4M19 e S4M20 que constituem o sistema S4

Entretanto, para a formulação S4M17 (Figura 78) foi observado uma maior contribuição das bandas de absorção do fármaco. Esse fato pode estar relacionado à presença de uma maior concentração do fármaco puro no material polimérico ($109,13 \pm 0,22 \text{ mg.g}^{-1}$) e à ausência da β -CD, que acarretou, aos outros materiais do sistema S4, elevada sobreposição de sinais com o MetHCl.

4.4.7 Avaliação por espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN ^{13}C no estado sólido, obtidos em polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, para as formulações S4M1, S4M2, S4M7, S4M8 e para o material reticulado elaborado na ausência da β -CD, estão apresentados nas Figuras 79 a 83.

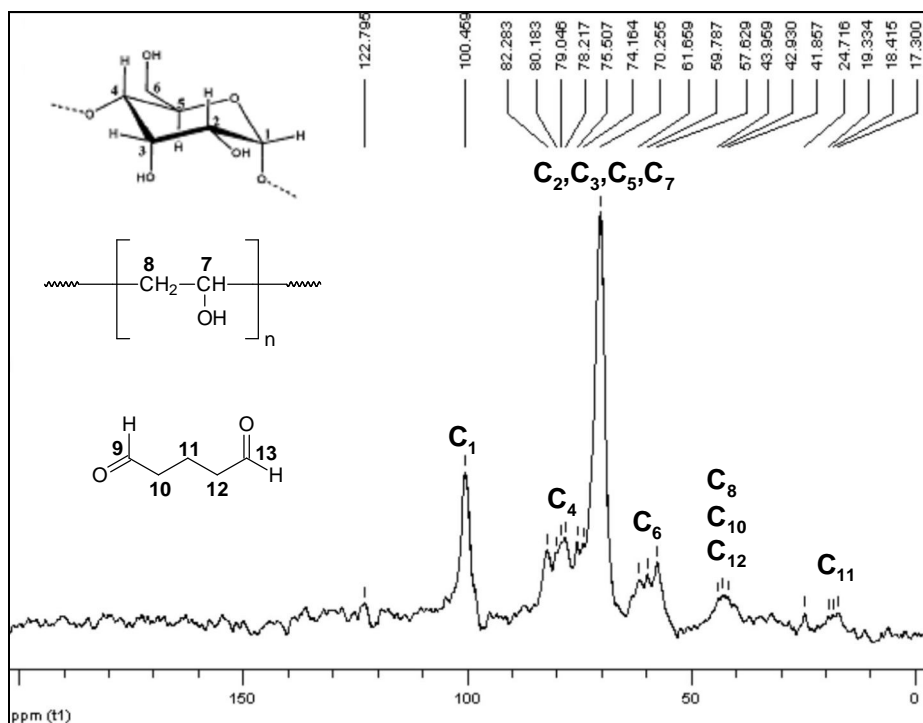


Figura 79 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, das micropartículas S4M1

Os materiais microparticulados revelaram espectros de RMN ^{13}C com sinais característicos, nas mesmas regiões de deslocamento químico. Os assinalamentos verificados ao redor de 20 ppm e de 40 ppm foram atribuídos aos sinais dos carbonos metilênicos (C_8 , C_{10} , C_{11} e C_{12}) presente nas estruturas do GAI e do PVAI.

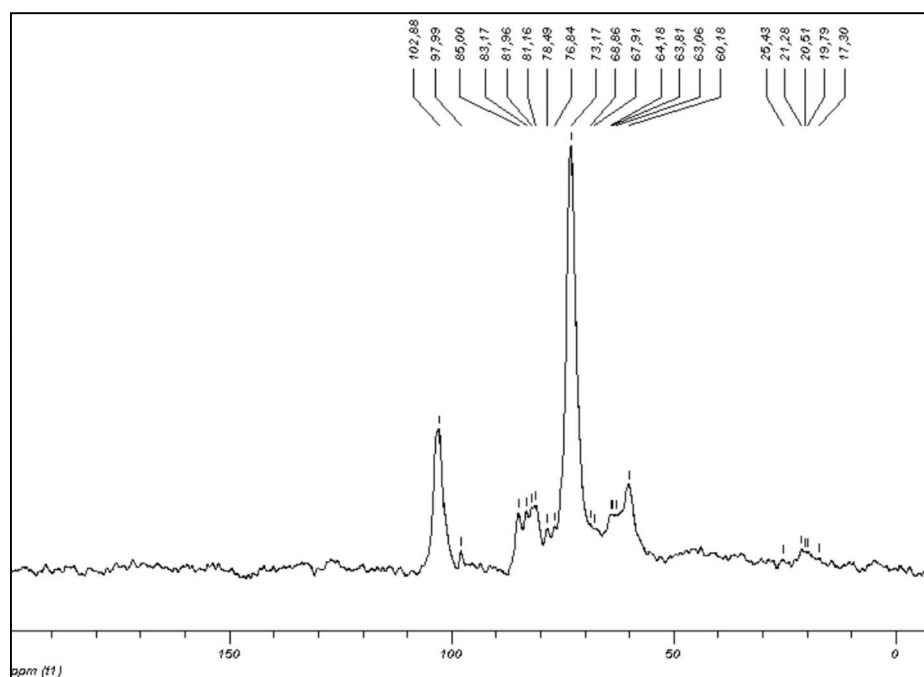


Figura 80 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, das micropartículas S4M2 (os assinalamentos característicos estão indicados na Figura 79)

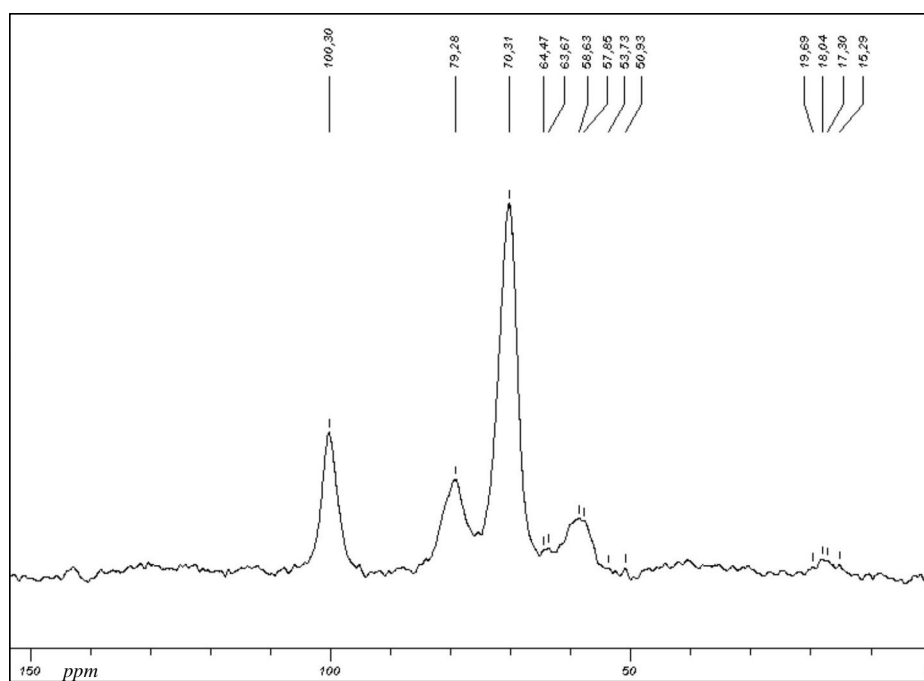


Figura 81 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, das micropartículas S4M7 (os assinalamentos característicos estão indicados na Figura 79)

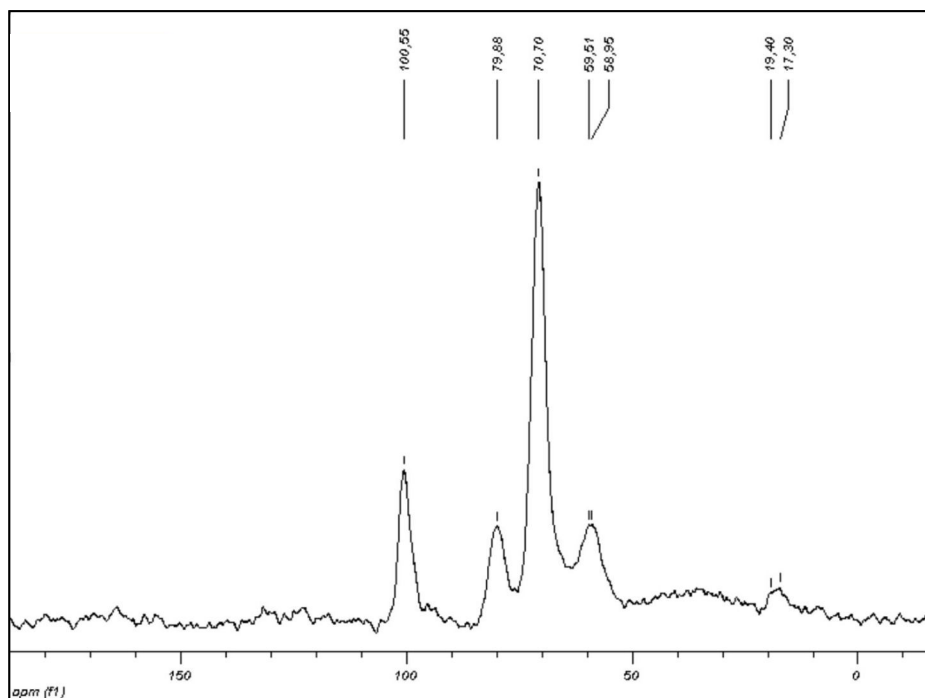


Figura 82 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, das micropartículas S4M8 (os assinalamentos característicos estão indicados na Figura 79)

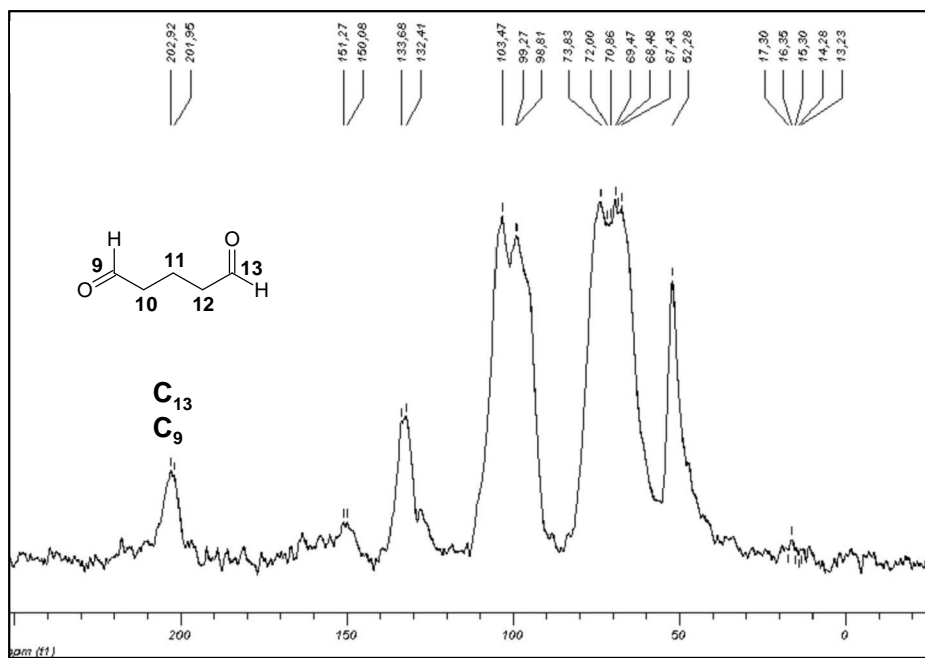


Figura 83 – Espectro RMN ^{13}C no estado sólido, com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico, do produto reticulado complementar, obtido na ausência da β -CD

Os picos observados por volta de 60 ppm foram assinalados como referentes aos carbonos ligados ao grupo hidroxila primário (**C**₆) das piranoses que formam a estrutura da β -CD. A multiplicidade de sinais próximos a 70 e 80 ppm foi identificada como correspondente aos carbonos ligados ao grupamento hidroxila secundário (**C**₂, **C**₃, **C**₅ e **C**₇) presentes nas moléculas de D-glucose da β -CD e nos meros do PVAI ou ainda, ao carbono que forma o grupamento éter (**C**₄) das unidades cíclicas da β -CD. Os sinais verificados ao redor de 100 ppm foram atribuídos aos carbonos acetálicos (**C**₁) que caracterizam a ligação glicosídica $\alpha(1,4)$ entre as unidades de D-glucose da β -CD e, possivelmente, à formação da ligação acetálica decorrente da reação de reticulação dos materiais poliméricos. Esses assinalamentos estão de acordo com os relatos de HERNÁNDEZ *et al.* (2004), que elaboraram hidrogéis de PVAI com γ -ciclodextrina.

Dessa forma, os espectros de RMN ¹³C no estado sólido não permitiram a elucidação da reação de reticulação, devido à sobreposição de sinais na região de deslocamento químico próximo a 100 ppm, ocasionada pelos carbonos acetálicos presentes na β -CD.

Entretanto, quando da análise do espectro de RMN ¹³C para o produto reticulado complementar (Figura 83), preparado na ausência da β -CD, foram encontrados picos próximos a 200 ppm, correspondentes aos carbonos aldeídicos (**C**₉ e **C**₁₃) presentes na estrutura do reagente de reticulação. Considerando que o material foi lavado exaustivamente, é possível sugerir que existem moléculas de GAI ligadas ao PVAI por uma das extremidades, porém sem reagir pela outra extremidade, formando estruturas pendentes à cadeia polimérica.

Para as formulações S4M1, S4M2, S4M7 e S4M8 não foram constatados sinais nessa região de deslocamento químico, o que permite propor, a partir da sensibilidade do método de espectroscopia de ressonância magnética nuclear, que não há grupamentos aldeídos livres ou pendentes ao PVAI ou à β -CD nas micropartículas. Esse resultado pode ser justificado pelo consumo total do GAI durante a reação de reticulação e/ou pela sua eliminação no processo de *spray-drying*, o que se constitui em uma vantagem, devido à toxicidade que essa substância apresenta.

4.4.8 Estudo de liberação *in vitro*

As Figuras 84 e 85 estabelecem a comparação entre o perfil de dissolução do MetHCl puro e o perfil de liberação do fármaco a partir das formulações do sistema S4, quando da utilização do sistema de células de fluxo.

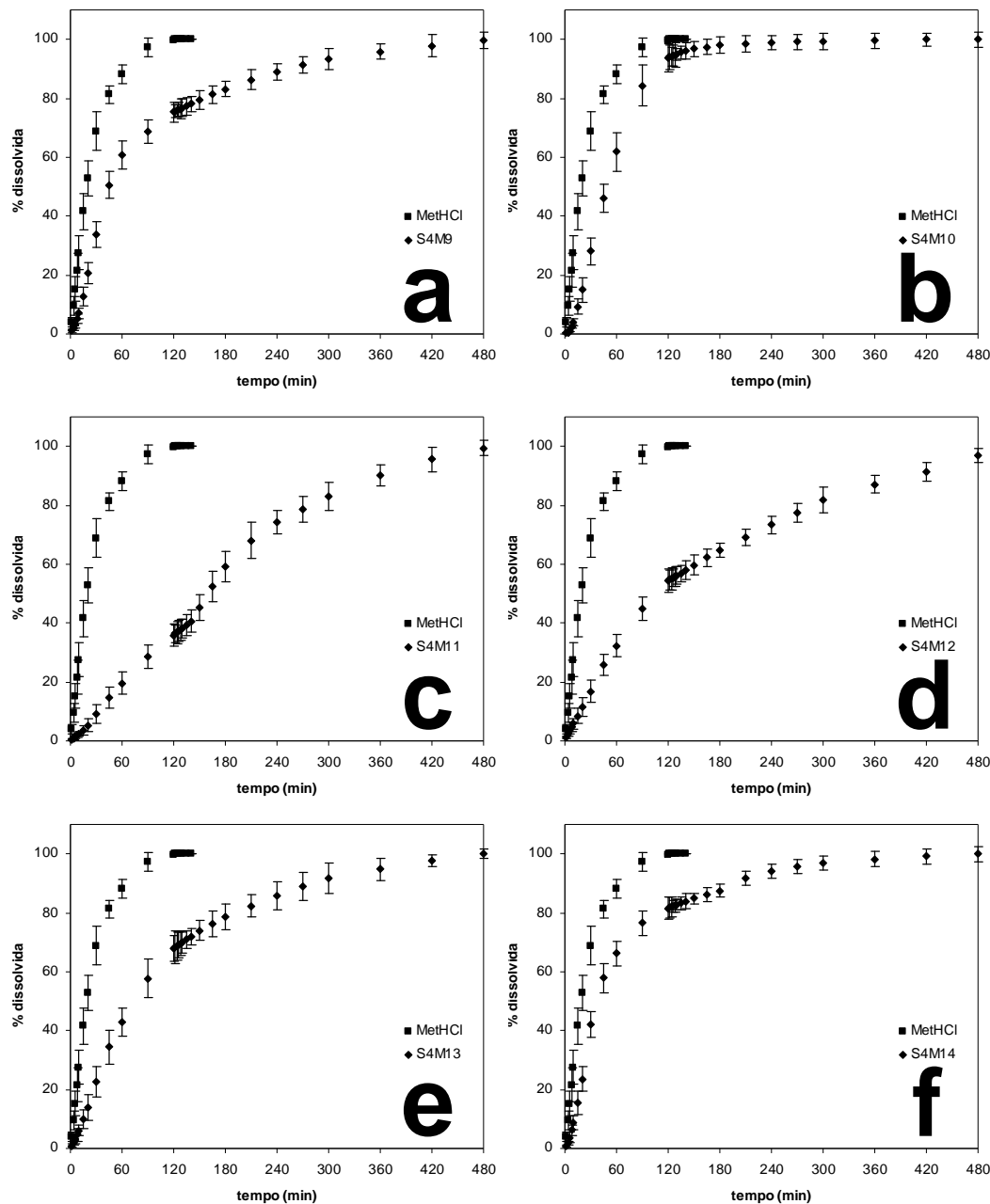


Figura 84 – Comparação entre o perfil de liberação *in vitro* do fármaco MetHCl e das micropartículas S4M9 (a), S4M10 (b), S4M11 (c), S4M12 (d), S4M13 (e) e S4M14 (f) em fluido gástrico simulado ($\text{HCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e em tampão fosfato (pH 7,4), empregando o sistema de células de fluxo

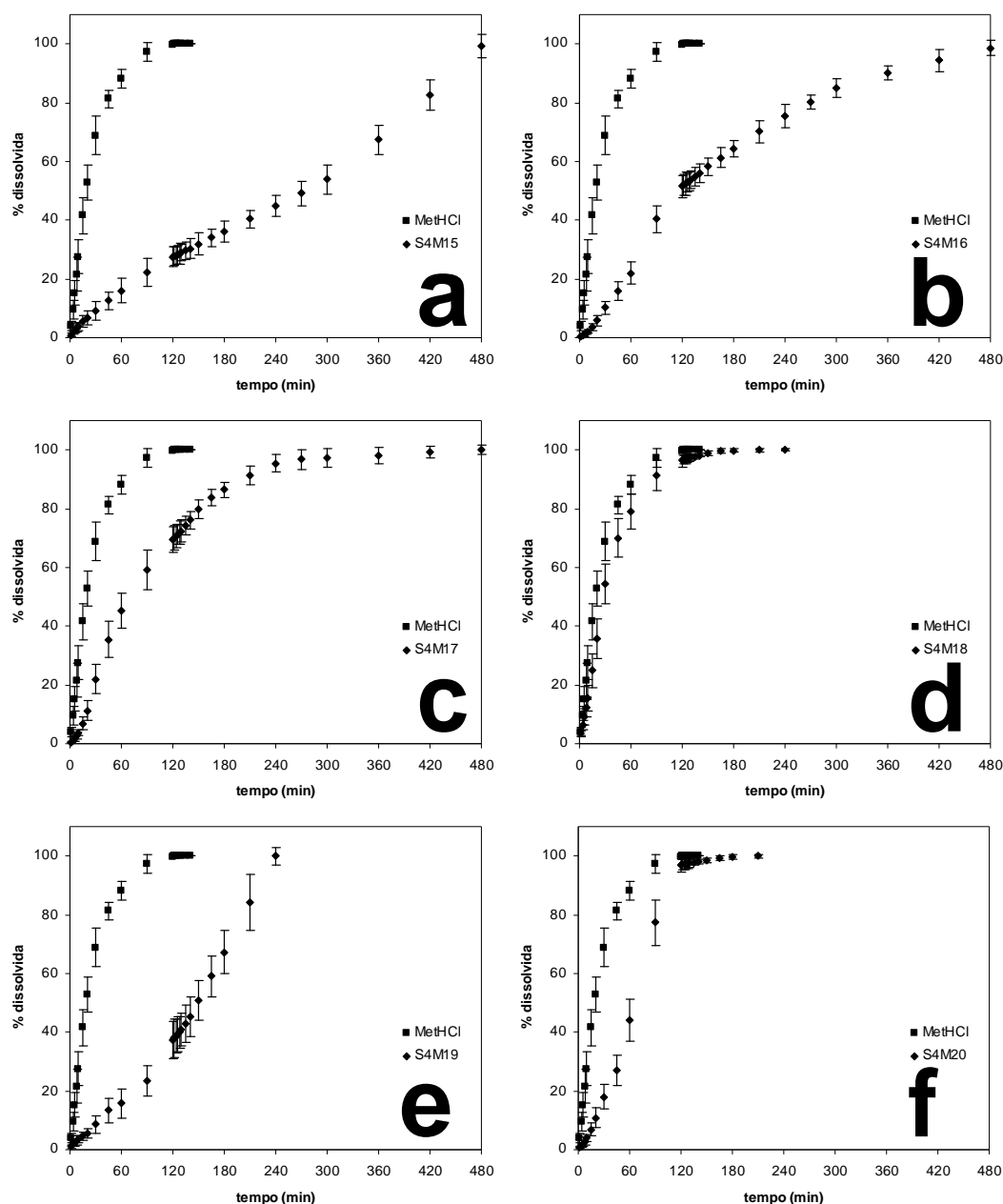


Figura 85 – Comparação entre o perfil de liberação *in vitro* do fármaco MetHCl e das micropartículas S4M15 (a), S4M16 (b), S4M17 (c), S4M18 (d), S4M19 (e) e S4M20 (f) em fluido gástrico simulado (HCl 0,1 mol.L⁻¹) e em tampão fosfato (pH 7,4), empregando o sistema de células de fluxo

Para o fármaco puro, foi verificada uma porcentagem de dissolução de $99,84 \pm 0,07$ %, após 120 min do estudo de liberação *in vitro*. Nesse mesmo tempo de coleta, foram observados, a partir dos materiais microparticulados, valores de porcentagem de dissolução do MetHCl de $75,32 \pm 3,50$ % (formulação S4M9), $93,59 \pm 4,73$ % (formulação S4M10), $35,92 \pm 3,86$ % (formulação S4M11),

54,26 \pm 4,02 % (formulação S4M12), 67,92 \pm 4,28 % (formulação S4M13), 81,59 \pm 3,76 % (formulação S4M14), 27,53 \pm 3,46 % (formulação S4M15), 51,52 \pm 3,75 % (formulação S4M16), 69,48 \pm 4,38 % (formulação S4M17), 96,37 \pm 2,24 % (formulação S4M18), 37,26 \pm 6,42 % (formulação S4M19) e 96,98 \pm 2,42 % (formulação S4M20). Os produtos S4M11, S4M15 e S4M19 revelaram resultados de porcentagem de dissolução inferiores a 40 %, o que indica que esses materiais foram mais efetivos no controle da liberação do ativo para o meio de dissolução.

A eficiência de dissolução calculada para o MetHCl puro foi de 94 \pm 4 %, avaliando as coletas efetuadas até 480 min. Para as micropartículas, foram verificados valores de eficiência de dissolução de 81 \pm 3 % (formulação S4M9), 88 \pm 3 % (formulação S4M10), 63 \pm 3 % (formulação S4M11), 67 \pm 3 % (formulação S4M12), 76 \pm 4 % (formulação S4M13), 85 \pm 3 % (formulação S4M14), 47 \pm 3 % (formulação S4M15), 67 \pm 3 % (formulação S4M16), 80 \pm 3 % (formulação S4M17), 92 \pm 4 % (formulação S4M18), 71 \pm 4 % (formulação S4M19) e 86 \pm 2 % (formulação S4M20).

Considerando as informações obtidas para a eficiência de dissolução do MetHCl presente nas micropartículas de S4M9 a S4M16, foi possível estabelecer o efeito principal para cada variável analisada (β -CD, GAI e H₂O Milli-Q®) e os efeitos de interação resultantes do planejamento fatorial 2³, como sumarizado na Tabela 29.

Tabela 29 – Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2³, a partir do delineamento proposto ao sistema S4

Média	71,78 \pm 1,06
Efeitos principais	
variável 1 (β -CD)	9,54 \pm 2,12
variável 2 (GAI)	– 21,46 \pm 2,12
variável 3 (H ₂ O Milli-Q®)	– 5,86 \pm 2,12
Efeitos secundários de interação	
12	1,86 \pm 2,12
13	4,33 \pm 2,12
23	– 2,21 \pm 2,12
Efeito trifatorial	
123	3,56 \pm 2,12

Foi possível verificar que apenas os efeitos principais podem ser considerados significativos, uma vez que o valor absoluto para cada um desses

efeitos foi superior a 4,89 %, produto calculado entre o valor do ponto da distribuição de Student com 8 graus de liberdade (2,306), ao intervalo de 95 % de confiança, e o erro padrão para cada resposta (2,12 %). Nesse nível de confiança, os efeitos de interação entre dois ou três fatores não foram avaliados como significativos, o que conduziu à interpretação das variáveis de forma individualizada.

A variável que exerceu a maior influência na eficiência de dissolução foi o GAI, enquanto que a β -CD e a H₂O Milli-Q[®] apresentaram efeitos, porém com menor intensidade. Foi possível constatar que o efeito da β -CD é positivo, o que permite estabelecer que a mudança do nível negativo (2,8375 g ou 2,5 mmol) para o nível positivo (5,6750 g ou 5,0 mmol), eleva o valor da eficiência de dissolução. Entretanto, para o GAI e para a H₂O Milli-Q[®] foram observados efeitos negativos, o que indica que a modificação dos níveis negativos (0,2 mL ou 0,53 mmol de GAI e 200 mL de H₂O Milli-Q[®]) para os níveis positivos (1,0 mL ou 2,65 mmol de GAI e 100 mL de H₂O Milli-Q[®]) reduziu o resultado dessa resposta. Considerando que o interesse está voltado à diminuição da eficiência de dissolução do MetHCl a partir dos materiais microparticulados, por meio de uma liberação prolongada, a melhor condição experimental foi obtida com 2,8375 g de β -CD, 1,0 mL de GAI e 100 mL de H₂O Milli-Q[®], fato que foi constatado para a formulação S4M15, que revelou uma eficiência de dissolução de 47 ± 3 %.

Os resultados verificados para a eficiência de dissolução foram concordantes com as observações efetuadas por MEV e com a análise granulométrica. Os materiais que tiveram os menores resultados de eficiência de dissolução formaram sistemas reticulados com valores mais elevados para o diâmetro médio e para a distribuição de tamanho, respectivamente, 56,74 μ m e *span* de 11,67 para a formulação S4M11 e 83,45 μ m e *span* de 6,87 para a formulação S4M15.

O material S4M18, com estrutura reticulada e cristais na superfície (Figura 58 h), apresentou perfil (Figura 85 d) e eficiência de dissolução (92 ± 4 %) próximos ao observado para o fármaco puro, o que permite propor que a maior parcela do MetHCl não se encontra encapsulada.

As Figuras 86, 87 e 88 apresentam os modelos matemáticos que forneceram o melhor ajuste aos perfis de liberação *in vitro* do MetHCl puro e das micropartículas do sistema S4, considerando os resultados encontrados para o coeficiente de

correlação (r), para o critério de seleção do modelo (MSC) e para o ajuste gráfico proposto pelo software *MicroMath Scientist*[®].

Para o fármaco puro, a equação monoexponencial (Figura 86) foi a que permitiu o ajuste mais adequado dos dados de dissolução ($r = 0,999$ e $MSC = 5,05$), com uma constante cinética $k = 0,0355 \text{ min}^{-1}$.

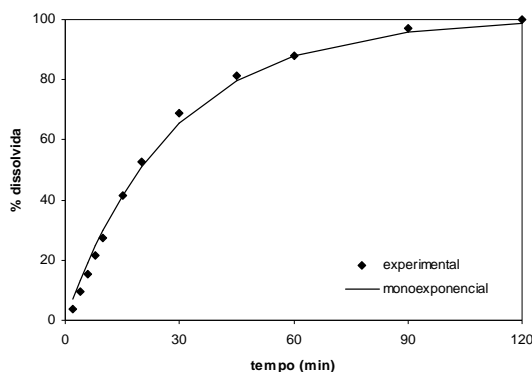


Figura 86 – Gráfico resultante do ajuste dos dados experimentais para o MetHCl puro a partir do perfil de liberação *in vitro*, considerando a modelagem matemática da equação monoexponencial

A equação monoexponencial (Figura 87 a) também foi a que melhor ajustou os dados de dissolução para a formulação S4M9 ($r = 0,993$ e $MSC = 4,19$), indicando uma constante cinética de $k = 0,0115 \text{ min}^{-1}$. Para as micropartículas S4M10, a equação de Weibull (Figura 87 b) forneceu o ajuste mais adequado ($r = 0,999$ e $MSC = 7,34$), apresentando uma curva sigmoidal ($b = 2,33$) e $Td = 34,87 \text{ min}$. Valores de $r = 0,996$, $MSC = 4,60$, $b = 1,98$ e $Td = 127,97 \text{ min}$ foram obtidos a partir da aplicação da equação de Weibull (Figura 87 c) para a formulação S4M11. A equação biexponencial (Figura 87 d) foi a que ajustou mais adequadamente os dados de dissolução do produto S4M12 ($r = 0,999$, $MSC = 6,05$, $\alpha = 0,0194 \text{ min}^{-1}$ e $\beta = 0,0051 \text{ min}^{-1}$). Para a formulação S4M13, a equação monoexponencial (Figura 87 e) forneceu o melhor ajuste ($r = 0,998$ e $MSC = 5,86$), com $k = 0,0090 \text{ min}^{-1}$. Valores de $r = 0,993$, $MSC = 4,26$ e $k = 0,0143 \text{ min}^{-1}$ foram calculados a partir da utilização da equação monoexponencial (Figura 87 f) para a formulação S4M14.

A equação de ordem zero (Figura 88 a) foi a que melhor ajustou os resultados de dissolução para a formulação S4M15 ($r = 0,995$ e $MSC = 4,04$), revelando uma constante cinética de $k = 0,1996 \text{ min}^{-1}$. Para as micropartículas S4M16, a equação monoexponencial (Figura 88 b) possibilitou o ajuste mais adequado ($r = 0,998$ e

MSC = 4,58), apresentando um $k = 0,0058 \text{ min}^{-1}$. Valores de $r = 0,998$, MSC = 4,83 e $k = 0,0100 \text{ min}^{-1}$ foram encontrados a partir da modelagem matemática da equação monoexponencial (Figura 88 c) para a formulação S4M17.

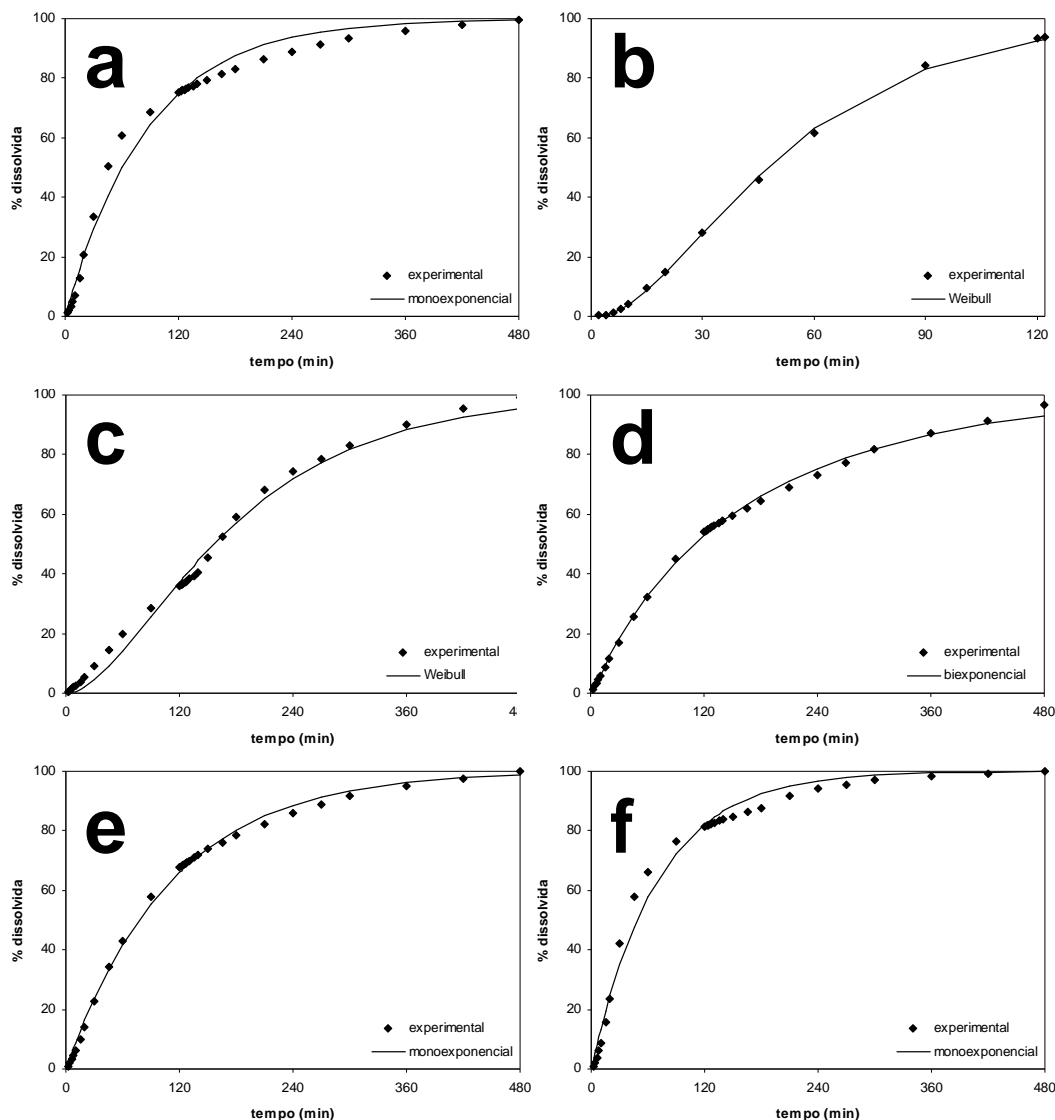


Figura 87 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para as micropartículas do sistema S4, com base na modelagem matemática a partir dos perfis de liberação *in vitro*; modelagem matemática da equação monoexponencial para as formulações S4M9 (a), S4M13 (e) e S4M14 (f); modelagem matemática da equação de Weibull para as formulações S4M10 (b) e S4M11 (c); modelagem matemática da equação biexponencial para a formulação S4M12 (d)

A equação monoexponencial (Figura 88 d) foi a que ajustou mais adequadamente os dados de dissolução para o material S4M18 ($r = 0,997$, MSC = 4,19, $k = 0,0239 \text{ min}^{-1}$). Para a formulação S4M19, a equação de ordem zero

(Figura 88 e) permitiu o melhor ajuste ($r = 0,983$ e $MSC = 3,17$), com $k = 0,3525 \text{ min}^{-1}$. Valores de $r = 0,996$, $MSC = 4,02$ e $k = 0,7873 \text{ min}^{-1}$ foram calculados a partir da aplicação da equação de ordem zero (Figura 88 f) para a formulação S4M20.

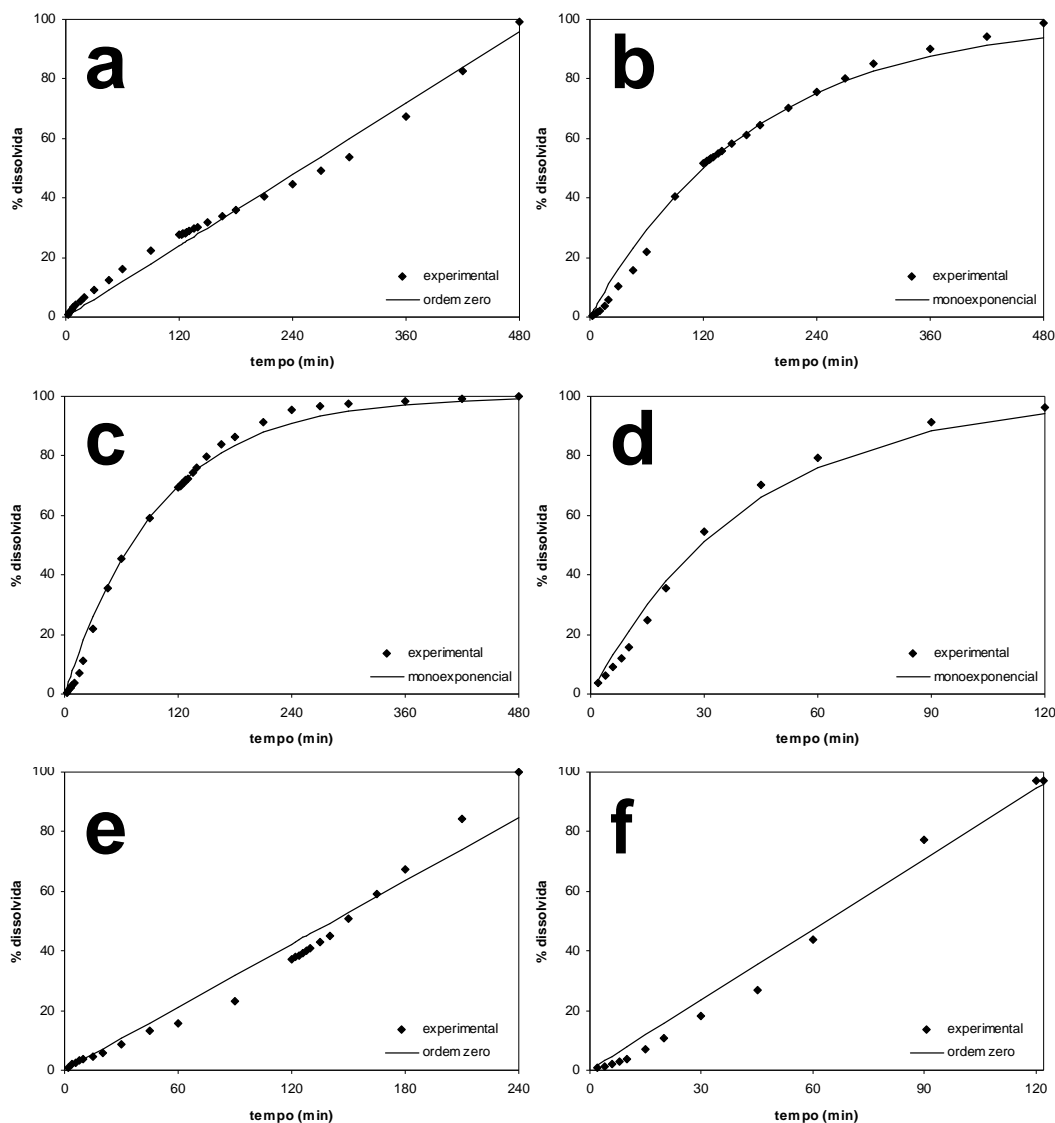


Figura 88 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais para as micropartículas do sistema S4, com base na modelagem matemática a partir dos perfis de liberação *in vitro*; modelagem matemática da equação de ordem zero para as formulações S4M15 (a), S4M19 (e) e S4M20 (f); modelagem matemática da equação monoexponencial para as formulações S4M16 (b), S4M17 (c) e S4M18 (d)

Esses resultados indicam que os sistemas poliméricos microparticulados foram capazes de promover uma modificação do perfil de liberação do fármaco em

avaliação. Entretanto, foi possível constatar que os dados experimentais dos perfis de liberação *in vitro* para as micropartículas do sistema S4 foram ajustados por diferentes modelos matemáticos. Esse fato pode apresentar uma relação com a diversidade de estruturas químicas passíveis de serem obtidas, quando da reação do PVAI e/ou da β -CD com o GAI, a partir do mecanismo de adição nucleofílica aos grupamentos carbonílicos do agente de reticulação, catalisado pelo meio ácido (Figura 89).

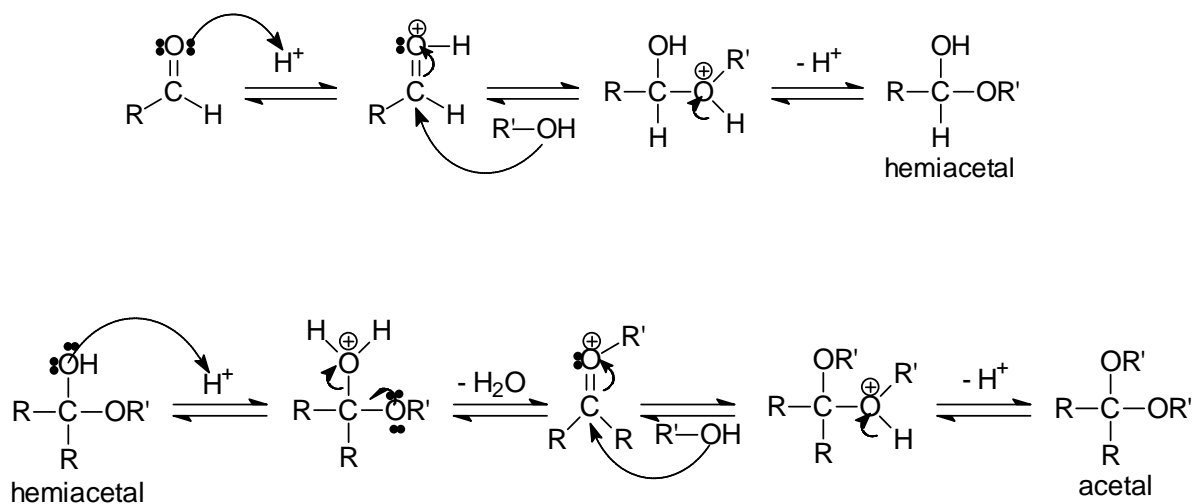


Figura 89 – Esquema do mecanismo de adição nucleofílica proposto para os materiais do sistema S4

A partir da presença do HCl no meio reacional, ocorreu a protonação de uma das carbonilas do GAI, o que tornou o carbono eletrofílico da carbonila mais reativo. Em seguida, o grupamento hidroxila presente na estrutura do PVAI ou da β -CD promoveu o ataque nucleofílico em um dos carbonos carbonílicos do GAI, resultando na formação de um hemiacetal, após a eliminação de um próton. Considerando a provável existência de impedimento estérico, sobretudo para a molécula de β -CD, não se descarta a hipótese da manutenção de ligações hemiacetálicas na estrutura química dos materiais. Porém, a reação pode ter conduzido à formação de acetais, quando da protonação da hidroxila do hemiacetal para a eliminação de uma molécula de água. O carbocátion formado se estabilizou por ressonância com o par de elétrons do oxigênio. Essa estrutura foi novamente atacada por um grupo hidroxila do PVAI ou da β -CD, para gerar um acetal protonado que foi desprotonado para a formação do acetal. É importante verificar que esse

mecanismo de reação pode ter ocorrido nas duas carbonilas do GAI, com as hidroxilas do PVAI e/ou da β -CD, gerando materiais molecularmente diferentes e com reticulação variável. Dessa forma, a natureza química dos materiais de partida pode ter conduzido à formação das formulações com perfis de liberação do MetHCl variáveis, o que resultou na aplicação de diferentes modelos matemáticos para explicar os dados experimentais observados na avaliação *in vitro*.

As Figuras 90 e 91 resumizam os resultados da modelagem matemática realizada para as formulações do sistema S4, segundo o modelo de Korsmeyer-Peppas. Aplicando a lei das potências, valores de n igual a 1,08 (formulação S4M9), 1,31 (formulação S4M10), 1,05 (formulação S4M11), 0,79 (formulação S4M12), 0,86 (formulação S4M13), 1,01 (formulação S4M14), 0,78 (formulação S4M15), 1,01 (formulação S4M16), 1,03 (formulação S4M17), 0,95 (formulação S4M18), 1,31 (formulação S4M19) e 1,38 (formulação S4M20) foram calculados.

A maioria das formulações revelou um valor de n superior a 0,85. Esses resultados indicam que o mecanismo de liberação envolve à degradação da estrutura polimérica e ainda, à entrada do frente do solvente no sistema microparticulado, com a dissolução do MetHCl e da β -CD em dispersão molecular, o que implica na formação de poros e remoção do fármaco para o meio externo. Dessa forma, é possível sugerir que existem domínios do ativo e da β -CD compondo a estrutura das micropartículas e que esses materiais se apresentam, principalmente, no estado amorfo, uma vez que os difratogramas não evidenciaram picos representativos de cristalinidade.

Entretanto, foram observados valores de n de 0,79 e 0,78 para as formulações S4M12 e S4M15, respectivamente. Portanto, para esses materiais microparticulados, o mecanismo de liberação do fármaco é denominado de transporte anômalo (SIEPMANN & PEPPAS, 2001), no qual ocorre a sobreposição dos fenômenos de difusão Fickiana do ativo e de degradação do sistema polimérico e/ou de entrada do frente de solvente na estrutura dos produtos.

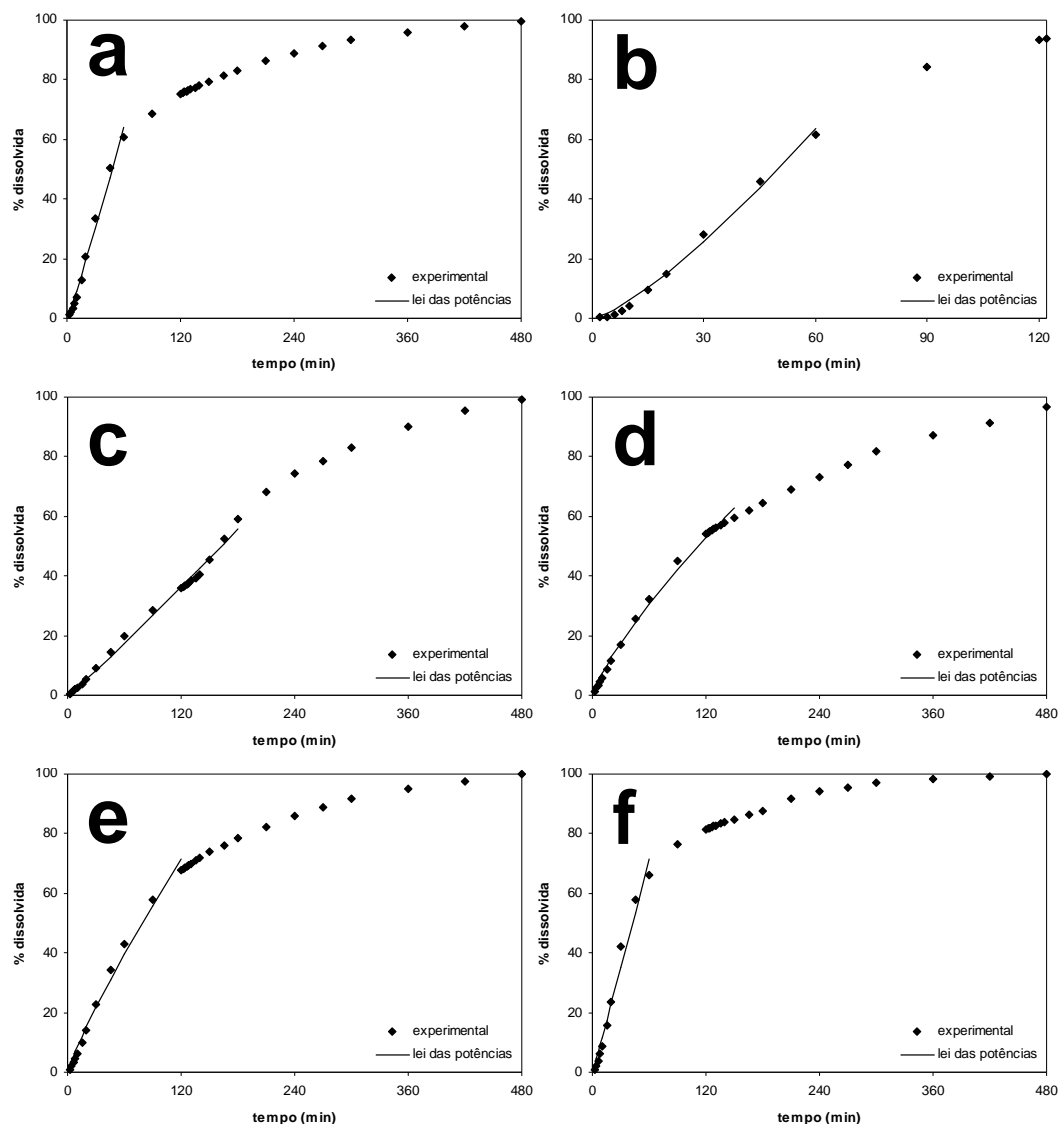


Figura 90 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais à modelagem matemática da equação de Korsmeyer-Peppas para as formulações S4M9 (a), S4M10 (b), S4M11 (c), S4M12 (d), S4M13 (e) e S4M14 (f)

Confrontando com as informações da Tabela 08, é possível verificar que essas partículas foram obtidas com o nível positivo de GAI (1,0 mL ou 2,65 mmol), o que pode ter conduzido a uma maior reticulação e, com isso, a alteração no mecanismo de liberação do ativo.

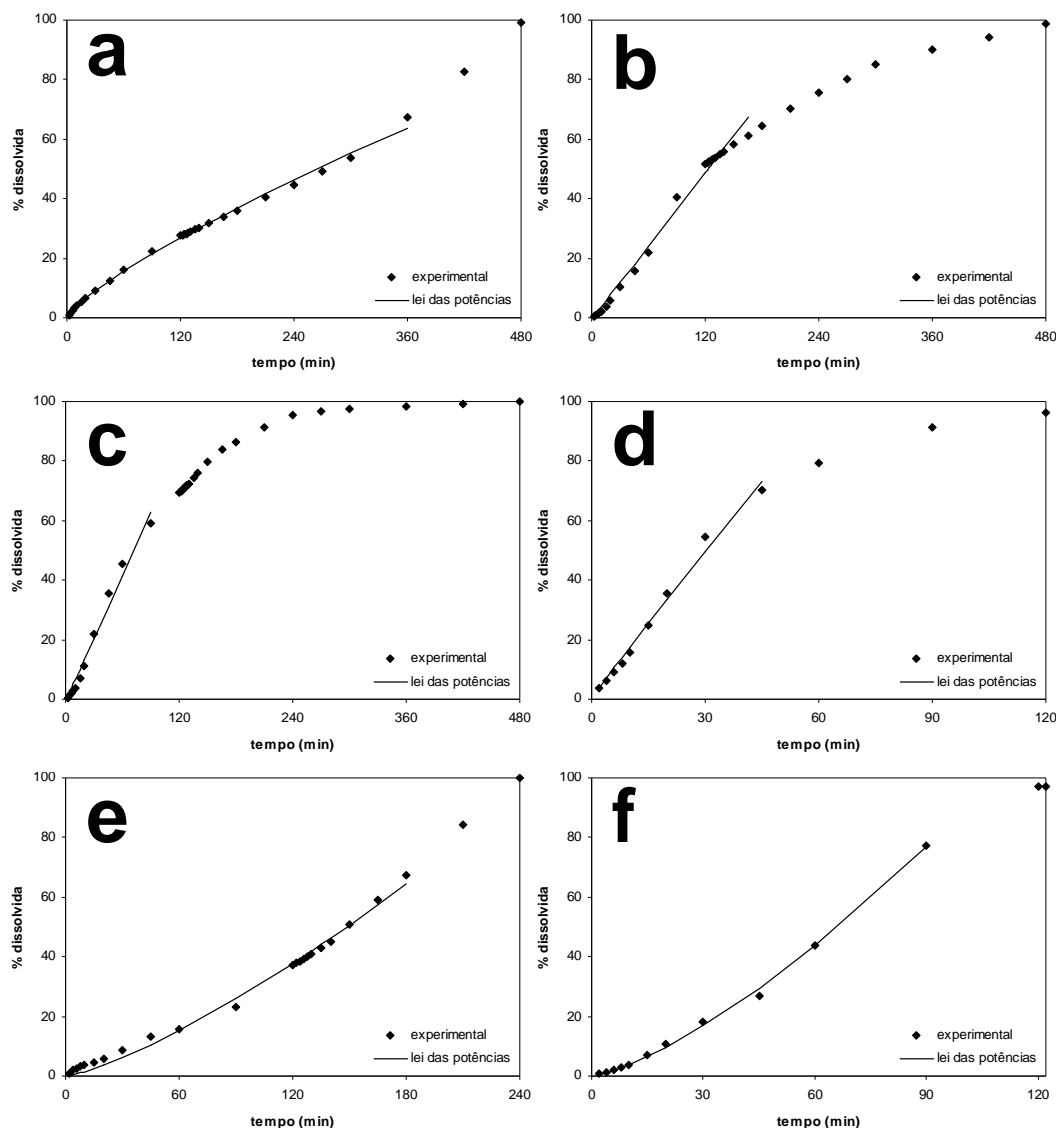


Figura 91 – Gráficos resultantes do ajuste dos dados experimentais à modelagem matemática da equação de Korsmeyer-Peppas para as formulações S4M15 (a), S4M16 (b), S4M17 (c), S4M18(d), S4M19 (e) e S4M20 (f)

Os materiais do sistema S4 mostraram resultados de rendimento considerados adequados para o método de *spray-drying* e eficiência de incorporação próxima ao valor ideal. A partir do planejamento fatorial, foi possível comprovar que as três variáveis apresentam efeito na modificação do perfil de dissolução do MetHCl, sendo determinantes para o desenvolvimento de sistemas de liberação modificada do fármaco baseados no produto de reticulação entre PVAI, β -CD e GAI, com posterior secagem por aspersão. Considerando os resultados encontrados, as condições mais apropriadas para a obtenção desses materiais

decorrem da utilização de menor quantidade de β -CD e de meio reacional, com a maior proporção do agente de reticulação.

5 CONCLUSÕES

No presente trabalho, micropartículas poliméricas contendo o MetHCl foram obtidas com sucesso. As micropartículas de PHBV, preparadas pelo método de emulsão múltipla e evaporação do solvente orgânico (sistema S1), resultaram em materiais esféricos, com baixa dispersão granulométrica. Para esse sistema, um valor adequado de eficiência de encapsulação (9,76 %) foi verificado quando um meio alcalino (pH = 12,0), na presença simultânea de NaCl, foi utilizado como fase aquosa externa.

Os materiais elaborados com os polímeros Eudragit[®] S 100, Eudragit[®] RS 100 e Methocel F4M[®] pelo método de emulsão em meio não aquoso e evaporação do solvente orgânico (sistema S2) revelaram partículas esféricas ou quase esféricas, com diâmetros médios elevados e baixa dispersão granulométrica, pela formação de agregados. Valores elevados para a eficiência de encapsulação do ativo (96,3 a 99,0 %) foram observados.

As formulações obtidas pelo método de *spray-drying* (sistema S3), desenvolvidas com os mesmos polímeros empregados no sistema S2, conduziram à formação de micropartículas com pequenos diâmetros médios e de formatos característicos, em geral, semelhantes ao de hemácias. A eficiência de encapsulação, como verificada para o sistema precedente, foi próxima ao valor ideal, variando de 90,1 a 94,0 %.

Os produtos formulados pelo método de secagem por aspersão (sistema S4), a partir dos materiais reticulados constituídos por PVAI, β -CD e GAI resultaram em micropartículas de formato esférico, revelando concavidades na superfície ou aspecto fundido. As dispersões granulométricas foram monomodais, bimodais ou irregulares, concordando com as condições de reação. Para a eficiência de encapsulação, foram verificados valores adequados, entre 97,0 e 109,1 %.

As avaliações efetuadas por difração de raio-X, espectroscopia na região do infravermelho e calorimetria exploratória diferencial (neste caso, apenas para o sistema S1) demonstraram que o MetHCl está fisicamente disperso nos materiais poliméricos, constituindo dispersões moleculares ou formando domínios nas estruturas das micropartículas. A análise termogravimétrica realizada para o

sistema S1 indicou um efeito plastificante do fármaco entre as cadeias poliméricas de PHBV. Nos espectros de ressonância magnética nuclear dos produtos do sistema S4, não foi observada a presença de carbonos aldeídicos, o que permite sugerir que o GAI tenha reagido totalmente ou tenha sido eliminado durante o processo de *spray-drying*.

A partir dos resultados obtidos nos estudos de liberação *in vitro*, foi possível constatar que a maioria dos sistemas microparticulados desenvolvidos no presente trabalho promoveu uma modificação estatisticamente significativa do perfil de dissolução do MetHCl.

No planejamento fatorial elaborado para o sistema S4, foi possível demonstrar que as variáveis β -CD, GAI e H₂O Milli-Q[®] apresentam efeito estatisticamente significativo na modificação do perfil de dissolução do MetHCl, sendo que as condições mais apropriadas para a obtenção desses materiais decorrem da utilização de menor quantidade de β -CD e de meio reacional, com maior proporção do agente de reticulação.

A modelagem matemática dos perfis de liberação, segundo a equação de Korsmeyer-Peppas forneceu subsídios importantes para a discussão do mecanismo de liberação do fármaco a partir dos materiais microparticulados. Apenas uma formulação (S2M5) resultou em liberação baseada na difusão Fickniana do fármaco através da matriz polimérica, sendo que os outros produtos tiveram o mecanismo explicado por erosão e/ou entrada do fronte de solvente ou ainda, por transporte anômalo.

Dessa forma, as micropartículas poliméricas que compõem o presente estudo podem ser consideradas como estratégias promissoras para a elaboração de formas farmacêuticas de liberação modificada (comprimidos) contendo o fármaco MetHCl.

REFERÊNCIAS

ADIKWU, M.U.; YOSHIKAWA, Y. & TAKADA, K. Pharmacodynamic-pharmacokinetic profiles of metformin hydrochloride from a mucoadhesive formulation of a polysaccharide with antidiabetic property in streptozotocin-induced diabetic rat models. **Biomaterials** v.25, p.3041-3048, 2004.

AGNIHOTRI, S.A.; MALLIKARJUNA, N.N. & AMINABHAVI, T.M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release** v.100, n.1, p.5-28, 2004.

ALEX, R. & BODMEIER, R. Encapsulation of water-soluble drugs by a modified solvent evaporation method. I. Effect of process and formulation variables on drug entrapment. **Journal of Microencapsulation** v.7, n.3, p.347-355, 1990.

ALEX, P.; LACÍK, I.; ŠIMKOVÁ, B.; BAKOŠ, D.; PRÓNAYOVÁ, N.; LIPTAJ, T.; HANZELOVÁ, S. & VÁROŠOVÁ, M. Effect of melt processing on thermo-mechanical degradation of poly(vinyl alcohol)s. **Polymer Degradation and Stability** v.85, n.2, p.823-830, 2004.

ALI, J.; ARORA, S.; AHUJA, A.; BABBAR, A.K.; SHARMA, R.K.; KHAR, R.K. & BABOOTA, S. Formulation and development of hydrodynamically balanced system for metformin: *in vitro* and *in vivo* evaluation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.67, n.1, p.196-201, 2007.

AMASS, W.; AMASS, A.E. & TIGHE, B. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymer and recent advances in biodegradation studies. **Polymer International** v.47, p.89-144, 1998.

ANDERSON, J.M. & SHIVE, M.S. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. **Advanced Drug Delivery Review** v.28, p.5-24, 1997.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RE 899 de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do guia para a validação de métodos analíticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília: 02 de julho de 2003.

ARANHA, I.B. & LUCAS, E.F. Poli(álcool vinílico) modificado com cadeias hidrocarbônicas: avaliação do balanço hidrófilo/lipófilo. **Polímeros** v.11, n.4, p.180-187, 2001.

ARIDA, A.I. & AL-TABAKHA, M.M. Encapsulation of ketoprofen for controlled drug release. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.66, n.1, p.48-54, 2007.

ARSHADY, R. **Microspheres, microcapsules and liposomes**. London: Citrus Books, 1999.

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

BACHTSI, A.R. & KIPARISSIDES, C. Synthesis and release studies of oil-containing poly(vinyl alcohol) microcapsules prepared by coacervation. **Journal of Controlled Release** v.38, n.1, p.49-58, 1996.

BARAN, E.T.; ÖZER, N. & HASIRCI, V. Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) nanocapsules enzyme-carriers for cancer therapy: an *in vitro* study. **Journal of Microencapsulation** v.19, p.363-376, 2002.

BECK, R.C.R.; POHLMANN, A.R.; HOFFMEISTER, C.; GALLAS, M.R., COLLNOT, E.; SCHAEFER, U.F.; GUTERRES, S.S. & LEHR, C.M. Dexamethasone-loaded nanoparticle-coated microparticles: correlation between *in vitro* drug release and drug transport across Caco-2 cell monolayers. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.67, n.1, p.18-30, 2007.

BIBBY, D.C.; DAVIES, N.M. & TUCKER, I.G. Mechanisms by which cyclodextrins modify drug release from polymeric drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics** v.197, n.1-2, p.1-11, 2000.

BILLON, A.; BATAILLE, B.; CASSANAS, G. & JACOB, M. Development of spray-dried acetaminophen microparticles using experimental designs. **International Journal of Pharmaceutics** v.203, n.1-2, p.159-168, 2000.

BILLON, A.; BATAILLE, B.; DELALONDE, M. & JACOB, M. Spray-dried microparticulate systems containing acetaminophen. **Journal of Microencapsulation** v.19, n.2, p.165-172, 2002.

BIRNBAUM, D.T. & BRANNON-PEPPAS, L. **Microparticle drug delivery systems**. In: BROWN, D.M. (ed.) Drug delivery systems in cancer therapy. Totowa: Humana Press, p.117-135, 2003.

BLANCO PRIETO, M.J.; FATTAL, E.; GULIK, A.; DEDIEU, J.C.; ROQUES, B.P. & COUVREUR, P. Characterization and morphological analysis of cholecystokinin derivative peptide-loaded poly(lactide-co-glycolide) microspheres prepared by a water-in-oil-in-water emulsion solvent evaporation method. **Journal of Controlled Release** v.43, p.81-87, 1997.

BLANCO-PRÍETO, M.J., CAMPANERO, M.A.; BESSEGHIR, K.; HEIMGATNER, F. & GANDER, B. Importance of single or blended polymer types for controlled *in vitro* release and plasma levels of a somatostatin analogue entrapped in PLA/PLGA microspheres. **Journal of Controlled Release** v.96, n.3, p.437-448, 2004.

BOISDRON-CELLE, M.; MENEI, P.H. & BENOIT, P. Preparation and characterization of 5-FU-loaded microparticles as biodegradable anticancer drug carriers. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** v.47, p.108-114, 1995.

BOROVAC, T.; PELAGE, J.P.; KASSELOURI, A.; PROGNON, P.; GUIFFANT, G. & LAURENT, A. Release of ibuprofen from beads for embolization: *in vitro* and *in vivo* studies. **Journal of Controlled Release** v.115, n.3, p.266-274, 2006.

BOSQUILLON, C.; ROUXHET, P.G.; AHIMOU, F.; SIMON, D.; CULOT, C.; PRÉAT, V. & VANBEVER, R. Aerosolization properties, surface composition and physical state of spray-dried protein powders. **Journal of Controlled Release** v.99, n.3, p.357-367, 2004.

BRANNON-PEPPAS, L. Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in controlled drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics** v.116, n.1, p.1-9, 1995.

BRETNALL, A.A. & CLARKE, G.S. **Metformin hydrochloride**. In: BRITTAIN, H.G. (ed.) Analytical profiles of drug substances and excipients. San Diego: Academic Press, v.25, p.243-293, 1998.

BRIGGER, I.; DUBERNET, C. & COUVREUR, P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. **Advanced Drug Delivery Reviews** v.54, p.631-651, 2002.

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY. **Glucophage prescription information**. Princeton: Bristol-Myers Squibb Company, 1999.

BRUSCHI, M.L.; CARDOSO, M.L.C.; LUCCHESI, M.B. & GREMIÃO, M.P.D. Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: preparation and characterization. **International Journal of Pharmaceutics** v.264, n.1-2, p.45-55, 2003.

BURDOCK, G.A. Safety assessment of hydroxypropyl methylcellulose as a food ingredient. **Food and Chemical Toxicology** v.45, n.12, p.2341-2351, 2007.

CANEVAROLO JR., S.V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber Editora, 2004.

CAO, Q.-R.; CHOI, Y.-W.; CUI, J.-H. & LEE, B.-J. Formulation, release characteristics and bioavailability of novel monolithic hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets containing acetaminophen. **Journal of Controlled Release** v.108, n.2-3, p.351-361, 2005.

CAPAN, Y.; WOO, B.H.; GEBREKIDAN, S.; AHMED, S. & DELUCA, P.P. Influence of formulation parameters on the characteristics of poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres containing poly(L-lysine) complexed plasmid DNA. **Journal of Controlled Release** v.60, p-279-286, 1999.

CHALLA, R.; AHUJA, A.; ALI, J. & KHAR, R.K. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. **AAPS PharmSciTech** v.6, n.2, p.E329-E357, 2005.

CHEN, J. & DAVIS, S.S. The release of diazepam from poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) microspheres. **Journal of Microencapsulation** v.19, n.2, p.191-201, 2002.

CHEN, H.-H. & HUANG, Y.C. Rheological properties of HPMC enhanced surimi analyzed by small- and large-strain tests, II: effect of water content and ingredients. **Food Hydrocolloids** v.22, n.2, p.313-322, 2008.

CHEN, G.-Q. & WU, Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials. **Biomaterials** v.26, n.33, p.6565-6578, 2005.

CHENG, C.-L.; YU, L.X.; LEE, H.-L.; YANG, C.-Y.; LUE, C.-S. & CHOU, C.-H. Biowaiver extension potential to BCS Class III high solubility-low permeability drugs: bridging evidence for metformin immediate-release tablet. **European Journal of Pharmaceutical Sciences** v.22, n.4, p.297-304, 2004.

CHIRICO, S.; DALMORO, A.; LAMBERTI, G.; RUSSO, G. & TITOMANLIO, G. Analysis and modeling of swelling and erosion behavior for pure HPMC tablet. **Journal of Controlled Release** v.122, n.2, p.181-188, 2007.

CHOIGNOT, D.; LÉONARD, M.; SIX, J.L. & DELLACHERIE, E. Surfactive water-soluble copolymers for the preparation of controlled surface nanoparticles by double emulsion/solvent evaporation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** v.51, n.1, p.86-92, 2006.

CHULIA, D.; DELEUIL, M. & POURCELOT, Y. **Powder technology and pharmaceutical processes**. Amsterdam: Elsevier Science, 1994.

CHUNG, T.W.; HUANG, Y.Y. & LIU, Y.Z. Effects of the rate of solvent evaporation on the characteristics of drug loaded PLLA and PDLLA microspheres. **International Journal of Pharmaceutics** v.212, p.161-169, 2001.

CILURZO, F.; MINGHETTI, P.; SELMIN, F.; CASIRAGHI, A. & MONTANARI, L. Polymethacrylate salts as new low-swellable mucoadhesive materials. **Journal of Controlled Release** v.88, n.1, p.43-53, 2003.

COHEN, S.; YOSHIOKA, T.; LUCARELLI, M.; HWANG, L.H. & LANGER, R. Controlled delivery systems for proteins based on poly(lactic/glycolic acid) microspheres. **Pharmaceutical Research** v.8, p.713-720, 1991.

COLOMBO, P.; BETTINI, R.; SANTI, P. & PEPPAS, N.A. Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. **Pharmaceutical Science & Technology Today** v.3, n.6, p.198-204, 2000.

COLORCON. **Desenvolvimento de formulação de liberação prolongada de cloridrato de metformina (500 mg) usando Methocel® matrizes hidrofílicas**. Cotia: Colorcon, 2005.

COUTINHO, B.C.; MIRANDA, G.B.; SAMPAIO, G.R.; DE SOUZA, L.B.S.; SANTANA, W.J. & COUTINHO, H.D.M. A importância e as vantagens do poli(hidroxibutirato) (plástico biodegradável). **Revista Holos** v.20, n.3, p.76-81, 2004.

COUVREUR, P.; BLANCO-PRIETO, M.J.; PUISIEUX, F.; ROQUES, B. & FATTAL, E. Multiple emulsion technology for the design of microspheres containing peptides and oligopeptides. **Advanced Drug Delivery Reviews** v.28, p.85-96, 1997.

CUI, F.; CUN, D.; TAO, A.; YANG, M.; SHI, K.; ZHAO, M. & GUAN, Y. Preparation and characterization of melittin-loaded poly(dl-lactic acid) or poly(dl-lactic-co-glycolic

acid) microspheres made by the double emulsion method. **Journal of Controlled Release** v.107, p.310-319, 2005.

DAVIS, M.E. & BREWSTER, M.E. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. **Nature Reviews Drug Discovery** v.3, n.12, p.1023-1035, 2004.

DEASY, P.B. **Microencapsulation and related drug processes**. New York: Marcel Dekker, 1984.

DENG, X.M.; LI, X.H.; YUAN, M.L.; XIONG, C.D.; HUANG, Z.T.; JIA, W.X. & ZHANG, Y.H. Optimization of preparative conditions for poly-DL-lactide-polyethylene glycol microspheres with entrapped *Vibrio Cholera* antigens. **Journal of Controlled Release** v.58, p.123-131, 1999.

DESAI, M.; LABHASETWAR, V.; AMIDON, G. & LEVY, R. Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size. **Pharmaceutical Research** v.13, n.12, p.1838-1845, 1996.

DI COLO, G.; FALCHI, S. & ZAMBITO, Y. In vitro evaluation of a system for pH-controlled peroral delivery of metformin. **Journal of Controlled Release** v.80, p.119-128, 2002.

DÍEZ, S. & TROS DE ILARDUYA, C. Versatility of biodegradable poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) microspheres for plasmid DNA delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.63, n.2, p.188-197, 2006.

DINI, L.; PANZARINI, E.; MICCOLI, M.A.; MICELI, V.; PROTOPAPA, C. & RAMIRES, P.A. *In vitro* study of the interaction of polyalkilimide and polyvinyl alcohol hydrogels with cells. **Tissue and Cell** v.37, n.6, p.479-487, 2005.

DUARTE, A.R.C.; ROY, C.; VEGA-GONZÁLEZ, A.; DUARTE, C.M.M. & SUBRA-PATERNAULT, P. Preparation of acetazolamide composite microparticles by supercritical anti-solvent techniques. **International Journal of Pharmaceutics** v.332, n.1-2, p.132-139, 2007.

ELKHARRAZ, K.; FAISANT, N.; GUSE, C.; SIEPMANN, F.; ARICA-YEGIN, B.; OGER, J.M.; GUST, R.; GOEPFERICH, A.; BENOIT, J.P. & SIEPMANN, J. Paclitaxel-loaded microparticles and implants for the treatment of brain cancer: preparation and physicochemical characterization. **International Journal of Pharmaceutics** v.314, n.2, p.127-136, 2006.

EPPSTEIN, D.A. & LONGENECKER, J.P. Alternative delivery systems for peptides and proteins as drugs. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems** v.5, p.99-139, 1988.

ESPOSITO, E.; RONCARATI, R.; CORTESI, R.; CERVELLATI, F. & NASTRUZZI, C. Production of Eudragit microparticles by spray drying technique: influence of experimental parameters on morphological and dimensional characteristics. **Pharmaceutical Development and Technology** v.5, n.2, p.267-278, 2000.

ESPOSITO, E.; CERVELLATI, F.; MENEGATTI, E.; NASTRUZZI, C. & CORTESI, R. Spray-dried Eudragit microparticles as encapsulation devices for vitamin C. **International Journal of Pharmaceutics** v.242, p.329-334, 2002.

FAISANT, N., AKIKI, J. ; SIEPMANN, F.; BENOIT, J.P. & SIEPMANN, J. Effects of the type of release medium on drug release from PLGA-based microparticles: experiment and theory. **International Journal of Pharmaceutics** v.314, n.2, p.189-197, 2006.

FATHALLAH, M.; FOTIADU, F. & JAIME, C. Cyclodextrin inclusion complexes. MM2 calculations reproducing bimodal inclusions. **The Journal of Organic Chemistry** v.59, n.6, p.1288-1293, 1994.

FERNÁNDEZ-CARBALLIDO, A.; HERRERO-VANRELL, R.; MOLINA-MARTÍNEZ, I.T. & PASTORIZA, P. Biodegradable ibuprofen-loaded PLGA microspheres for intraarticular administration: effect of Labrafil addition on release *in vitro*. **International Journal of Pharmaceutics** v.279, n.1-2, p.33-41, 2004.

FICEK, B.J. & PEPPAS, N.A. Novel preparation of poly(vinyl alcohol) microparticles without crosslinking agent for controlled drug delivery of proteins. **Journal of Controlled Release** v.27, n.3, p.259-264, 1993.

FINCH, C.A. **Poly(vinyl alcohol) development**. Chichester: Wiley, 1992.

FREIBERG, S. & ZHU, X.X. Polymer microspheres for controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutics** v.282, n.1-2, p.1-18, 2004.

FREICHEL, O.L. & LIPPOLD, B.C. A new oral erosion controlled drug delivery system with a late burst in the release profile. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.50, n.3, p.345-351, 2000.

FREITAS, S.; MERKLE, H.P. & GANDER, B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. **Journal of Controlled Release** v.102, p.313-332, 2005.

FREYTAG, T.; DASHEVSKY, A.; TILLMAN, L.; HARDEE, G.E. & BODMEIER, R. Improvement of the encapsulation efficiency of oligonucleotide-containing biodegradable microspheres. **Journal of Controlled Release** v.69, p.197-207, 2000.

FUNDUEANU, G.; MOCANU, G.; CONSTANTIN, M.; CARPOV, A.; BULACOVSCI, V.; ESPOSITO, E. & NASTRUZZI, C. Acrylic microspheres for oral controlled release of the biguanide buformin. **International Journal of Pharmaceutics** v.218, p.13-25, 2001.

GARCÍA, A.S.; MOYA, D.S. & DOMINGO, P.L. Antidiabéticos orales en el anciano. **Revista de la Sociedad Madrileña de Medicina de familia y comunitaria** v.5, n.1, p.39-45, 2003.

GHOSH, S.K. **Functional coatings by polymer microencapsulation**. Weinheim: Wiley-VCH, 2006.

GIBSON, S.G. How to optimize your spray dryer's performance. **Powder and Bulk Engineering** v.15, p.31-41, 2001.

GIL, E.S.; ORLANDO, R.M. & MATIAS, R. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. Campo Grande: Uniderp, 2005.

GIOVAGNOLI, S.; BLASI, P.; SCHOUBBEN, A.; ROSSI, C. & RICCI, M. Preparation of large porous biodegradable microspheres by using a simple double-emulsion method for capreomycin sulfate pulmonary delivery. **International Journal of Pharmaceutics** v.333, n.1-2, p.103-111, 2007.

GOULD, S. & SCOTT, R.C. 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): a toxicology review. **Food and Chemical Toxicology** v.43, n.10, p.1451-1459, 2005.

GUERRINI, L.M.; BRANCIFORTI, M.C.; BRETAS, R.E.S. & OLIVEIRA, M.P. Eletrofiação do poli(álcool vinílico) via solução aquosa. **Polímeros** v.16, n.4, p.154-159, 2006.

GUPTE, A. & CIFTCI, K. Formulation and characterization of paclitaxel, 5-FU and paclitaxel + 5-FU microspheres. **International Journal of Pharmaceutics** v.276, n.1-2, p.93-106, 2004.

HÄBERLEIN, H.; SELIGER, H.; KOHLER, R. & SULZBERGER, P. Cost-effective synthesis of environmentally benign materials on the basis of poly-3-hydroxybutyrate. **Polímeros** v.15, n.2, p.122-126, 2005.

HACHICHA, W.; KODJIKIAN, L. & FESSI, H. Preparation of vancomycin microparticles: importance of preparation parameters. **International Journal of Pharmaceutics** v.324, n.2, p.176-184, 2006.

HARDY, I.J.; WINDBERG-BAARUP, A.; NERI, C.; BYWAY, P.V.; BOOTH, S.W. & FITZPATRICK, S. Modulation of drug release kinetics from hydroxypropyl methyl cellulose matrix tablets using polyvinyl pyrrolidone. **International Journal of Pharmaceutics** v.337, n.1-2, p.246-253, 2007.

HARDY, I.J.; COOK, W.G. & MELIA, C.D. Compression and compaction properties of plasticised high molecular weight hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) as a hydrophilic matrix carrier. **International Journal of Pharmaceutics** v.311, n.1-2, p.26-32, 2006.

HASSAN, C.M.; STEWART, J.E. & PEPPAS, N.A. Diffusional characteristics of freeze/thawed poly(vinyl alcohol) hydrogels: applications to protein controlled release from multilaminate devices. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.49, n.2, p.161-165, 2000.

HAZNEDAR, S. & DORTUNÇ, B. Preparation and *in vitro* evaluation of Eudragit microspheres containing acetazolamide. **International Journal of Pharmaceutics** v.269, n.1, p.131-140, 2004.

HEGAZY, N.; DEMIREL, M. & YAZAN, Y. Preparation and *in vitro* evaluation of pyridostigmine bromide microparticles. **International Journal of Pharmaceutics** v.242, p.171-174, 2002.

HERNÁNDEZ, R.; RUSA, M.; RUSA, C.C.; LÓPEZ, D.; MIJANGOS, C. & TONELLI, A.E. Controlling PVA hydrogels with γ -cyclodextrin. **Macromolecules** v.37, n.25, p.9620-9625, 2004.

HERRMANN, J. & BODMEIER, R. The effect of particle microstructure on the somatostatin release from poly(lactide) microspheres prepared by a W/O/W solvent evaporation method. **Journal of Controlled Release** v.36, n.1-2, p.63-71, 1995.

HIRAYAMA, F. & UEKAMA, K. Cyclodextrin-based controlled drug release system. **Advanced Drug Delivery Reviews** v.36, n.1, p.125-141, 1999.

HOFFMAN, A.; STEPENSKY, D.; LAVY, E.; EYAL, S.; KLAUSNER, E. & FRIEDMAN, M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of gastroretentive dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics** v.277, n.1-2, p.141-153, 2004.

HOMBREIRO PÉREZ, M.; SIEPMANN, J.; ZINUTTI, C.; LAMPRECHT, A.; UBRICH, N.; HOFFMAN, M.; BODMEIER, R. & MAINCENT P. Non-degradable microparticles containing a hydrophilic and/or a lipophilic drug: preparation, characterization and drug release modeling. **Journal of Controlled Release** v.88, p.413-428, 2003.

HOMBURG, R. Polycystic ovary syndrome. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology** v.22, p.261-274, 2008.

HSU, Y.Y.; HAO, T. & HEDLEY, M.L. Comparison of process parameters for microencapsulation of plasmid DNA in poly(D,L-lactic-co-glycolic) acid microspheres. **Journal of Drug Targeting** v.7, p.313-323, 1999.

HU, L.D.; LIU, Y.; TANG, X. & ZHANG, Q. Preparation and in vitro/in vivo evaluation of sustained-release metformin hydrochloride pellets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.64, n.2, p.185-192, 2006.

HUANG, J.; WIGENT, R.J.; BENTZLEY, C.M. & SCHWARTZ, J.B. Nifedipine solid dispersion in microparticles of ammonio methacrylate copolymer and ethylcellulose binary blend for controlled drug delivery: effect of drug loading on release kinetics. **International Journal of Pharmaceutics** v.319, n.1-2, p.44-54, 2006.

HUANG, X.; CHESTANG, B.L. & BRAZEL, C.S. Minimization of initial burst in poly(vinyl alcohol) hydrogels by surface extraction and surface-preferential crosslinking. **International Journal of Pharmaceutics** v.248, n.1-2, p.183-192, 2002.

IEMMA, F.; SPIZZIRRI, U.G.; PUOCI, F.; MUZZALUPO, R.; TROMBINO, S.; CASSANO, R.; LETA, S. & PICCI, N. pH-Sensitive hydrogels based on bovine serum albumin for oral drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics** v.312, n.1-2, p.151-157, 2006.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. **Validation of analytical procedures: methodology**. London: ICH, 1996 (ICH Harmonised Tripartite Guideline).

INZUCCHI, S.E. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 *Diabetes*: scientific review. **The Journal of the American Medical Association** v.287, p.360-372, 2002.

ITO, F.; FUJIMORI, H. & MAKINO, K. Incorporation of water-soluble drugs in PLGA microspheres. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** v.54, n.2, p.173-178, 2007.

JALIL, R. & NIXON, J.R. Biodegradable poly(lactide acid) and poly(lactide-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release properties. **Journal of Microencapsulation**: v.3, p.297-325, 1990a.

JALIL, R. & NIXON, J.R. Microencapsulation using poly(L-lactic acid). III. Effect of polymer molecular weight on the microcapsule properties. **Journal of Microencapsulation**: v.7, p.41-52, 1990b.

JAYANTHI, R.; MEHTA, R.C.; THANOO, B.C. & DELUCA, P.P. Effect of processing parameters on the properties of peptide-containing PLGA microspheres. **Journal of Microencapsulation** v.14, p.163-174, 1997.

JELVEHGARI, M.; SIAHI-SHADBAD, M.R.; AZARMI, S.; MARTIN, G.P. & NOKHODCHI, A. The microsphere delivery system of benzoyl peroxide: preparation, characterization and release studies. **International Journal of Pharmaceutics** v.308, n.1-2, p.124-132, 2006.

JIANG, W.; GUPTA, R.K.; DESHPANDE, M.C. & SCHWENDEMAN, S.P. Biodegradable poly(lactic-co-glycolic acid) microparticles for injectable delivery of vaccine antigens. **Advanced Drug Delivery Review** v.57, n.3, p.391-410, 2005.

JUNI, K. & NAKANO, M. Poly(hydroxy acids) in drug delivery. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems** v.3, n.3, p.209-232, 1987.

KAR, M. & CHOUDHURY, P.K. Preparation and evaluation of chitosan microspheres. **Pharmainfo.net**, 2005.

KAR, M. & CHOUDHURY, P.K. Formulation and evaluation of ethyl cellulose microspheres prepared by the multiple emulsion technique. **Die Pharmazie** v.62, n.2, p.122-125, 2007.

KATO, Y.; ONISHI, H. & MACHIDA, Y. Application of chitin and chitosan derivatives in the pharmaceutical field. **Current Pharmaceutical Biotechnology** v.4, p.303-309, 2003.

KHAN, K.A. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** v.27, p.48-49, 1975.

KIBBE, A. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 3 ed. Washington: American Pharmaceutical Association, 2000.

KITCHELL, J. & WISE, D. Poly(lactic/glycolic acid) biodegradable drug-polymer matrix systems. **Methods in Enzymology** v.112, p.436-448, 1985.

KLOSE, D.; SIEPMANN, F.; ELKHARRAZ, K.; KRENZLIN, S. & SIEPMANN, J. How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles. **International Journal of Pharmaceutics** v.314, n.2, p.198-206, 2006.

KOESTER, L.S., ORTEGA, G.G., MAYORGA, P. & BASSANI, V.L. Mathematical evaluation of *in vitro* release profiles of hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets containing carbamazepine associated to β -cyclodextrin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.58, n.1, p.177-179, 2004.

KOFLER, N.; RUEDL, C.; KLIMA, J.; RECHEIS, H.; BÖCK, G.; WICK, G. & WOLF, H. Preparation and characterization of poly(D,L-lactide-co-glycolide) and poly(L-lactic acid) microspheres with entrapped pneumotropic bacterial antigens. **Journal of Immunological Methods** v.192, p.25-35, 1996.

KÖSE, G.T.; KORKUSUZ, F.; KORKUSUZ, P.; PURALI, N.; ÖZKUL, A. & HASIRCI, V. Bone generation on PHBV matrices: an *in vitro* study. **Biomaterials** v.24, n.27, p.4999-5007, 2003a.

KÖSE, G.T., KENAR, H.; HASIRCI, N. & HASIRCI, V. Macroporous poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) matrices for bone tissue engineering. **Biomaterials** v.24, n.11, p.1949-1958, 2003b.

KÖSE, G.T.; KORKUSUZ, F.; ÖZKUL, A.; SOYSAL, Y.; ÖZDEMİR, T.; YILDIZ, C. & HASIRCI, V. Tissue engineered cartilage on collagen and PHBV matrices. **Biomaterials** v.26, n.25, p.5187-5197, 2005.

KRANZ, H. & BODMEIER, R. A novel *in situ* forming drug delivery system for controlled parenteral drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics** v.332, n.1-2, p.107-114, 2007.

KRISHNAMACHARI, Y.; MADAN, P. & LIN, S. Development of pH- and time-dependent oral microparticles to optimize budesonide delivery to ileum and colon. **International Journal of Pharmaceutics** v.338, n.1-2, p.238-247, 2007.

KURKURI, M.D. & AMINABHAVI, T.M. Poly(vinyl alcohol) and poly(acrylic acid) sequential interpenetrating network pH-sensitive microspheres for the delivery of diclofenac sodium to the intestine. **Journal of Controlled Release** v.96, n.1, p.9-20, 2004.

LAGARCE, F.; GARCION, E.; FAISANT, N. ; THOMAS, O. ; KANAUIA, P. ; MENEI, P. & BENOIT, J.P. Development and characterization of interleukin-18-loaded biodegradable microspheres. **International Journal of Pharmaceutics** v.314, n.2, p.179-188, 2006.

LAMBERT, W.J. & PECK, K.D. Development of an *in situ* forming biodegradable poly-lactide-co-glycolide system for the controlled release of proteins. **Journal of Controlled Release** v.33, n.1, p.189-195, 1995.

LAMEIRO, M.H.; MALPIQUE, R.; SILVA, A.C.; ALVES, P.M. & MELO, E. Encapsulation of adenoviral vectors into chitosan-bile salt microparticles for mucosal vaccination. **Journal of Biotechnology** v.126, n.2, p.152-162, 2006.

LAMPRECHT, A.; TORRES, H.R.; SCHÄFER, U. & LEHR, C.M. Biodegradable microparticles as a two-drug controlled release formulation: a potential treatment of inflammatory bowel disease. **Journal of Controlled Release** v.69, p.445-454, 2000.

LE CORRE, P.; LE GUEVELLO, P.; GAJAN, V.; CHEVANNE, F. & LE VERGE, R. Preparation and characterization of bupivacaine-loaded polylactide and polylactide-co-glycolide microspheres. **International Journal of Pharmaceutics** v.107, n.1, p.41-49, 1994.

LEE, M. & ARONNE, L.J. Weight management for type 2 diabetes: global cardiovascular risk reduction. **The American Journal of Cardiology** v.99, n.4, p.68-79, 2007.

LIMA, K.M.; SILVA, C.L. & RODRIGUES JÚNIOR, J.M. Microesferas biodegradáveis. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento** v.2, p.10-13, 2000.

LIU, R.; MA, G.-H.; WAN, Y.-H. & SU, Z.-G. Influence of process parameters on the size distribution of PLA microcapsules prepared by combining membrane emulsification technique and double emulsion-solvent evaporation method. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** v.45, n.3-4, p.144-153, 2005.

LO, Y.; TSAI, J. & KUO, J. Liposomes and disaccharides as carries in spray-dried powder formulations of superoxide dismutase. **Journal of Controlled Release** v.94, p.259-272, 2004.

LOFTSSON, T. & DUCHÊNE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics** v.329, n.1-2, p.1-11, 2007.

LU, B.; ZHANG, J.Q. & YANG, H. Lung-targeting microspheres of carboplatin. **International Journal of Pharmaceutics** v.265, p.1-11, 2003.

MAIA, J.L.; SANTANA, M.H.A. & RÉ, M.I. The effect of some processing conditions on the characteristics of biodegradable microspheres obtained by an emulsion solvent evaporation process. **Brazilian Journal of Chemical Engineering** v.21, n.1, p.1-12, 2004.

MANDAL, T.K. Swelling-controlled release system for the vaginal delivery of miconazole. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.50, n.3, p.337-343, 2000.

MANO, E.B. & DIAS, M.L. **Química experimental de polímeros**. 1 ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2005.

MARTEN, F.L. **Vinyl alcohol polymers**. In: MARK, H.F.; BIKALES, N.M.; OVERBERGER, C.G. & MENGES, G. (eds.) *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*. New York: John-Wiley, v.17, 1985.

MARTIN DEL VALLE, E.M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process Biochemistry** v.39, n.9, p.1033-1046, 2004.

MASCHKE, A.; BECKER, C.; EYRICH, D.; KIERMAIER, J.; BLUNK, T. & GÖPFERICH, A. Development of a spray congealing process for the preparation of insulin-loaded lipid microparticles and characterization thereof. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.65, n.2, p.175-187, 2007.

MATEOVIĆ-ROJNIK, T.; FRLAN, R.; BOGATAJ, M.; BUKOVEC, P. & MRHAR, A. Effect of preparation temperature in solvent evaporation process on Eudragit RS microsphere properties. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** v.53, n.1, p.143-146, 2005.

MEINEL, L.; ILLI, O.E.; ZAPF, J.; MALFANTI, M.; MERKLE, H.P. & GANDER, B. Stabilizing insulin-like growth factor-I in poly(DL,lactide-co-glycolide) microspheres. **Journal of Controlled Release** v.70, p.193-202, 2001.

MEISSNER, Y.; UBRICH, N.; EL GHAZOUANI, F.; MAINCENT, P. & LAMPRECHT, A. Low molecular weight heparin loaded pH-sensitive microparticles. **International Journal of Pharmaceutics** v.335, n.1-2, p.147-153, 2007.

MENG, F.T.; MA, G.H.; QIU, W. & SU, Z.G. W/O/W double emulsion technique using ethyl acetate as organic solvent: effects of its diffusion rate on the characteristics of microparticles. **Journal of Controlled Release** v.91, n.3, p.407-416, 2003.

MERCK & COMPANY INCORPORATED. **The Merck Index**. 13 ed. New Jersey: Merck & Company Incorporated, 2001.

MIRANDA, A.; MILLÁN, M. & CARABALLO, I. Study of the critical points of HPMC hydrophilic matrices for controlled drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics** v.311, n.1-2, p.75-81, 2006.

MORALES, M.E.; RUIZ, M.A.; OLIVA, I.; OLIVA, M. & GALLARDO, V. Chemical characterization with XPS of the surface of polymer microparticles loaded with morphine. **International Journal of Pharmaceutics** v.333, n.1-2, p.162-166, 2007.

MORETTO, A.; TESOLIN, L.; MARSILIO, F.; SCHIAVON, M.; BERNA, M. & VERONESE, F.M. Slow release of two antibiotics of veterinary interest from PVA hydrogels. **Il farmaco** v.59, n.1, p.1-5, 2004.

MORISHITA, I.; MORISHITA, M.; TAKAYAMA, K.; MACHIDA, Y. & NAGAI, T. Enteral insulin delivery by microspheres in 3 different formulations using Eudragit L100 and S100. **International Journal of Pharmaceutics** v.91, n.1, p.29-37, 1993.

MU, L.; TEO, M.-M.; NING, H.-Z.; TAN, C.-S. & FENG, S.-S. Novel powder formulations for controlled delivery of poorly soluble anticancer drug: application and investigation of TPGS and PEG in spray-dried particulate system. **Journal of Controlled Release** v.103, n.3, p.565-575, 2005.

MULHBACHER, I.; ISPAS-SZABO, P.; LENAERTS, V. & MATEESCU, M.A. Cross-linked high amylase starch derivatives as matrices for controlled release of high drug loadings. **Journal of Controlled Release** v.76, p.51-58, 2001.

NHO, Y.-C.; PARK, S.-E.; KIM, H.-I. & HWANG, T.-S. Oral delivery of insulin using pH-sensitive hydrogels based on polyvinyl alcohol grafted with acrylic acid/methacrylic acid by radiation. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms** v.236, n.1-4, p.283-288, 2005.

OLIVEIRA, R.B. & LIMA, E.M. Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos. **Revista Eletrônica de Farmácia** v.3, n.1, p.29-35, 2006.

OLIVEIRA, W.P.; BOTT, R.F. & SOUZA, C.R.F. Manufacture of standardized dried extracts from medicinal Brazilian plants. **Drying Technology** v.24, n.4, p.523-533, 2006.

ONEDA, F. & RÉ, M.I. The effect of formulation variables on the dissolution and physical properties of spray-dried microspheres containing organic salts. **Powder Technology** v.130, p.377-384, 2003.

ORBAN, J.-C.; GHADDAB, A.; CHATTI, O. & ICHAI, C. Metformin-associated lactic acidosis. **Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation** v.25, p.1046-1052, 2006.

PÁLINKÓ-BIRÓ, E.; RÓNASZÈKI, G.; MERKLE, H.P. & GANDER, B. Release kinetics and immunogenicity of parvovirus microencapsulated in PLA/PLGA microspheres. **International Journal of Pharmaceutics** v.221, n.1-2, p.153-157, 2001.

PALMIERI, G.; BONACUCINA, G.; DI MARTINO, P. & MARTELLI, S. Spray-Drying as a method for microparticulate controlled release systems preparation: advantages and limits. I. water-soluble drugs. **Drug Development and Industrial Pharmacy** v.27, n.3, p.195-204, 2001.

PARHOFER, K.G.; LAUBACH, E.; GEISS, H.C. & OTTO, C. Effect of glucose control on lipid levels in patients with type 2 *Diabetes*. **Deutsch Med Wochenschr** v.127, n.18, p.958-962, 2002.

PATEL, A.; RAY, S. & THAKUR, R.S. *In vitro* evaluation and optimization of controlled release floating drug delivery system of metformin hydrochloride. **DARU** v.14, n.2, p.57-64, 2006.

PELTONEN, L.; AITTA, J.; HYVÖNEN, S.; KARJALAINEN, M. & HIRVONEN, J. Improved entrapment efficiency of hydrophilic drug substance during nanoprecipitation of poly(L-lactide) nanoparticles. **AAPS PharmSciTech** v.5, n.1, p.1-6, 2004.

PENG, F.; JIANG, Z.; HU, C.; WANG, Y.; LU, L. & WU, H. Pervaporation of benzene/cyclohexane mixtures through poly(vinyl alcohol) membranes with and without β -cyclodextrin. **Desalination** v.193, p.182-192, 2006.

PEREIRA, M.R.; CRUZ, L.; RÉ, M.I & GUTERRES, S.S. Micropartículas secas contendo fármaco modelo lipofílico preparadas a partir de suspensão aquosa: estudo de formulação. **Acta Farmacéutica Bonaerense** v.25, n.2, 198-205, 2006.

PERRIN, D.D. & ARMAREGO, W.L.F. **Purification of laboratory chemicals**. 3 ed. Oxford: Pergamon Press, 1988.

PETROVIC, A.; CVETKOVIÆ, N.; TRAJKOVIC, S.; IBRIC, S.; POPADIC, D. & DJURIC, Z. Mixture design evaluation of drug release from matrix tablets containing carbomer and HPMC. **Journal of Controlled Release** v.116, n.2, p.e104-e106, 2006.

PICH, A.; SCHIEMENZ, N.; CORTEN, C. & ADLER, H.-J.P. Preparation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) particles in O/W emulsion. **Polymer** v.47, n.6, p.1912-1920, 2006.

PINHO, J.J.R.G. & STORPIRTIS, S. Desenvolvimento e avaliação biofarmacotécnica de comprimidos de liberação controlada de cloridrato de metformina empregando meio de dissolução com variação gradual de pH. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** v.35, n.1, p.101-109, 1999.

PISTEL, K.F. & KISSEL, T. Effects of salt addition on the microencapsulation of proteins using W/O/W double emulsion technique. **Journal of Microencapsulation** v.17, p.467-483, 2000.

PISTEL, K.F.; BREITENBACH, A.; ZANGE-VOLLAND, R. & KISSEL, T. Brush-like branched biodegradable polyesters, part III: protein release from microspheres of poly(vinyl alcohol)-*graft*-poly(D,L-lactic-co-glycolic acid). **Journal of Controlled Release** v.73, n.1, p.7-20, 2001.

POLEY, L.H.; SILVA, M.G.; VARGAS, H.; SIQUEIRA, M.O. & SÁNCHEZ, R. Water and vapor permeability at different temperatures of poly(3-hydroxybutyrate) dense membranes. **Polímeros** v.15, n.1, p.22-26, 2005.

POUTON, C.W. & AKHTAR, S. Biosynthetic polyhydroxyalkanoates and their potential in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews** v.18, p.133-162, 1996.

QUINONES, H.J.C. **Ciclodextrinas: naturaleza, propiedades y aplicaciones**. Guadalajara: Departamento de Madera, Celulosa Y Papel, 2001.

RAFFIN, R.P.; COLOMÉ, L.M.; SCHAPOVAL, E.E.S.; JORNADA, D.S.; POHLMANN, A.R. & GUTERRES, S.S. Gastro-resistant microparticles containing sodium pantoprazole: stability studies and *in vivo* anti-ulcer activity. **The Open Drug Delivery Journal** v.1, n.1, p.28-35, 2007.

RAFFIN, R.P.; COLOMÉ, L.M.; POHLMANN, A.R. & GUTERRES, S.S. Preparation, characterization and *in vivo* anti-ulcer evaluation of pantoprazole-loaded microparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.63, p.198-204, 2006a.

RAFFIN, R.P.; GUTERRES, S.S.; POHLMANN, A.R. & RÉ, M.I. Powder characteristics of pantoprazole delivery systems produced in different spray-dryer scales. **Drying Technology** v.24, n.3, p.339-348, 2006b.

RATTES, A.L.R. & OLIVEIRA, W.P. Spray drying conditions and encapsulating composition effects on formation and properties of sodium diclofenac microparticles. **Powder Technology** v.171, n.1, p.7-14, 2007.

RAVI KUMAR, M.N.V.R. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences** v.3, n.2, p.234-258, 2000.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology** v.16, p.1195-1236, 1998.

RÉ, M.I. Formulating drug delivery systems by spray drying. **Drying Technology** v.24, p.433-446, 2006.

REITHMEIER, H.; HERRMANN, J. & GÖPFERICH, A. Lipid microparticles as a parenteral controlled release device for peptides. **Journal of Controlled Release** v.73, p.339-350, 2001.

REN, J.M.; ZOU, Q.M.; WANG, F.K.; HE, Q.A.; CHEN, W. & ZEN, W.K. PELA microspheres loaded *H. pylori* lysates and their mucosal immune response. **World Journal of Gastroenterology** v.8, p.1098-1102, 2002.

RINAKI, E.; VALSAMI, G. & MACHERAS, P. The power law can describe the 'entire' drug release curve from HPMC-based matrix tablets: a hypothesis. **International Journal of Pharmaceutics** v.255, n.1-2, p.199-207, 2003.

ROSCA, I.D.; WATARI, F. & UO, M. Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation. **Journal of Controlled Release** v.99, p.271-280, 2004.

ROSSI, S.; AZGHANI, A.O. & OMRI, A. Antimicrobial efficacy of a new antibiotic-loaded poly(hydroxybutyric-co-hydroxyvaleric acid) controlled release system. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** v.54, n.6, p.1013-1018, 2004.

RUAN, G. & FENG, S.S. Preparation and characterization of poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid) (PLA-PEG-PLA) microspheres for controlled release of paclitaxel. **Biomaterials** v.24, n.27, p.5037-5044, 2003.

SALSA, T.; VEIGA, F. & PINA, M.E. Oral controlled-release dosage forms. I. cellulose ether polymers in hydrophilic matrices. **Drug Development and Industrial Pharmacy** v.23, n.9, p.929-938, 1997.

SANGALLI, M.E.; MARONI, A.; FOPPOLI, A.; ZEMA, L.; GIORDANO, F. & GAZZANIGA, A. Different HPMC viscosity grades as coating agents for an oral time and/or site-controlled delivery system: a study on process parameters and *in vitro* performances. **European Journal of Pharmaceutical Sciences** v.22, n.5, p.469-476, 2004.

SIEPMANN, J. & PEPPAS, N.A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced Drug Delivery Reviews** v.48, n.2-3, p.139-157, 2001.

SIEPMANN, J.; FAISANT, N.; AKIKI, J.; RICHARD, J. & BENOIT, J.P. Effect of the size of biodegradable microparticles on drug release: experiment and theory. **Journal of Controlled Release** v.96, n.1, p.123-134, 2004.

SINGH, M.; SHARMA, R. & BANERJEE, U.C. Biotechnological applications of cyclodextrins. **Biotechnology Advances** v.20, n.5-6, p.341-359, 2002.

SKIBA, M.; BOUNOURE, F.; BARBOT, C.; ARNAUD, P. & SKIBA, M. Development of cyclodextrin microspheres for pulmonary drug delivery. **The Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** v.8, n.3, p.409-418, 2005.

SMITH, A. & HUNNEYBALL, M. Evaluation of poly(lactic acid) as a biodegradable drug delivery system for parenteral administration. **International Journal of Pharmaceutics** v.30, n.2-3, p.215-220, 1986.

SOUZA, C.R.F. & OLIVEIRA, W.P. Powder properties and system behavior during spray drying of *Bauhinia forficata* Link extract. **Drying Technology** v.24, p.735-749, 2006.

SOUZA, W. (ed.) **Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, p.1-44, 1998.

STELLA, V.J.; RAO, V.M.; ZANNOU, E.A. & ZIA, V. Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes. **Advanced Drug Delivery Reviews** v.36, n.1, p.3-16, 1999.

STEPENSKY, D.; FRIEDMAN, M.; SROUR, W.; RAZ, I. & HOFFMAN, A. Preclinical evaluation of pharmacokinetic-pharmacodynamic rationale for oral CR metformina formulation. **Journal of Controlled Release** v.71, p.107-115, 2001.

STURESSON, C.; ARTURSSON, P.; GHADERI, R.; JOHANSEN, K.; MIRAZIMI, A.; UHNOO, I.; SVENSSON, L.; ALBERTSSON, A.C & CARLFORS, J. Encapsulation of rotavirus into poly(lactide-co-glycolide) microspheres. **Journal of Controlled Release** v.59, p.377-389, 1999.

SUN, J.; WU, J.; LI, H. & CHANG, J. Macroporous poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) matrices for cartilage tissue engineering. **European Polymer Journal** v.41, n.10, p.2443-2449, 2005.

SZEJTLI, J. Introduction and general overview of ciclodextrina chemistry. **Chemical Reviews** v.98, p.1743-1753, 1998.

THOTE, A.J. & GUPTA, R.B. Formation of nanoparticles of a hydrophilic drug using supercritical carbon dioxide and microencapsulation for sustained release. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine** v.1, n.1, p.85-90, 2005.

UEDA, H. & TABATA, Y. Polyhydroxyalkanonate derivatives in current clinical applications and trials. **Advanced Drug Delivery Reviews** v.55, p.501-518, 2003.

UGURLU, T.; TURKOGLU, M.; GURER, U.S. & AKARSU, B.G. Colonic delivery of compression coated nisin tablets using pectin/HPMC polymer mixture. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v.67, n.1, p.202-210, 2007.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 28 ed. Rochville: United States Pharmacopeial Convention, 2005.

US PATENT 6866866. Controlled release metformin compositions, 2005.

VEHRING, R.; FOSS, W.R. & LECHUGA-BALLESTEROS, D. Particle formation in spray drying. **Journal of Aerosol Science** v.38, n.7, p.728-746, 2007.

VERRIJK, R.; SMOLDERS, I.J.; BOSNIE, N. & BEGG, A.C. Reduction of systemic exposure and toxicity of cisplatin by encapsulation in poly(lactide-co-glycolide). **Cancer Research** v.52, p.6653-6656, 1992.

VIRTO, M.R.; ELORZA, B.; TORRADO, S.; ELORZA M.L. & FRUTOS, G. Improvement of gentamicin poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) microspheres for treatment of osteomyelitis induced by orthopedic procedures. **Biomaterials** v.28, n.5, p.877-885, 2007.

WAGENAAR, B.W. & MÜLLER, B.W. Piroxicam release from spray-dried biodegradable microspheres. **Biomaterials** v.15, n.1, p.49-54, 1994.

WALTON, D. E. The Morphology of spray-dried particles: a qualitative view. **Drying Technology** v.18, n.9, p.1943-1986, 2000.

WAN, L.S.C.; HENG, P.W.S. & WONG, L.F. Relationship between swelling and drug release in a hydrophilic matrix. **Drug Development and Industrial Pharmacy** v.19, n.10, p.1201-1210, 1993.

WANG, Y.; TANG, Y.; GU, J.; FAWCETT, J.P. & BAI, X. Rapid and sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the quantitation of metformin in human plasma. **Journal of Chromatography B** v.808, p.215-219, 2004.

WANG, C.; YE, W.; ZHENG, Y.; LIU, X. & TONG, Z. Fabrication of drug-loaded biodegradable microcapsules for controlled release by combination of solvent evaporation and layer-by-layer self-assembly. **International Journal of Pharmaceutics** v.338, n.1-2, p.165-173, 2007.

WEISS, G.; KNOCH, A.; LAICHER, A.; STANISLAUS, F. & DANIELS, R. Microencapsulation of ibuprofen by a coacervation process using Eudragit L100-55 as an enteric polymer. **Drug Development and Industrial Pharmacy** v.19, n.20, p.2751-2764, 1993.

WESTEDT, U.; WITTMAR, M.; HELLWIG, M.; HANEFELD, P.; GREINER, A.; SCHAPER, A.K. & KISSEL, T. Paclitaxel releasing films consisting of poly(vinyl alcohol)-*graft*-poly(lactide-co-glycolide) and their potential as biodegradable stent coatings. **Journal of Controlled Release** v.111, n.1-2, p.235-246, 2006.

WU, P.-C.; HUANG, Y.-B.; CHANG, J.-S.; TSAI, M.-J. & TSAI, Y.-H. Design and evaluation of sustained release microspheres of potassium chloride prepared by Eudragit®. **European Journal of Pharmaceutical Sciences** v.19, n.2-3, p.115-122, 2003.

XIE, J.; LIM, L.K.; PHUA, Y.; HUA, J. & WANG, C.-H. Electrohydrodynamic atomization for biodegradable polymeric particle production. **Journal of Colloid and Interface Science** v.302, n.1, p.103-112, 2006.

YOSHIZAWA, H. Trends in microencapsulation research. **KONA** v.22, p.23-31, 2004.

YOUNG, S.; WONG, M.; TABATA, Y. & MIKOS, A.G. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. **Journal of Controlled Release** v.109, n.1-3, p.256-274, 2005.

YOUNG, E.C.; PIRES, M.L.E. & LIMA, M.B.C. Abordagem terapêutica no *Diabetes mellitus* tipo 2. **Cadernos Brasileiros de Medicina** v.14, n.1-4, p.17-34, 2001.

YUE, I.C.; POFF, J.; CORTÉS, M.E.; SINISTERRA, R.D.; FARIS, C.B.; HILDGEN, P.; LANGER, R. & SHASTRI, V.P. A novel polymeric chlorhexidine delivery device for the treatment of periodontal disease. **Biomaterials** v.25, n.17, p.3743-3750, 2004.

YUKSEL, N.; TINCER, T. & BAYKARA, T. Interaction between nicardipine hydrochloride and polymeric microspheres for a controlled release system. **International Journal of Pharmaceutics** v.140, n.2, p.145-154, 1996.

ZHOU, S.; LIAO, X.; LI, X.; DENG, X. & LI, H. Poly-D,L-lactide-co-poly(ethylene glycol) microspheres as potential vaccine delivery systems. **Journal of Controlled Release** v.86, n.2-3, p.195-205, 2003.

ZOLNIK, B.S.; RATON, J.-L. & BURGESS, D.J. Application of UNITED STATES PHARMACOPEIA apparatus 4 and *in situ* fiber optic analysis to microsphere release testing. **Dissolution Technologies** v.12, n.2, p.11-14, 2005.